

Aus dem Institut für Hygiene
und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Direktor: Professor Dr. F. Ulbrich †

Serologische Untersuchungen über die Verteilung von Antikörpern
gegen die Viren der Mucosal Disease,
der infektiösen Rhinotracheitis bzw. pustulären Vulvovaginitis
und der Parainfluenza-3 bei Rindern in Hessen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
James Stewart Kaminjolo
Tierarzt aus Zomba/Malawi

Gießen 1969

Aus dem Institut für Hygiene
und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Direktor: Professor Dr. F. Ulbrich †

Serologische Untersuchungen über die Verteilung von Antikörpern
gegen die Viren der Mucosal Disease,
der infektiösen Rhinotracheitis bzw. pustulären Vulvovaginitis
und der Parainfluenza-3 bei Rindern in Hessen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
James Stewart Kaminjolo
Tierarzt aus Zomba/Malawi

Gießen 1969

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät in Giessen

Dekan: Professor Dr. H. Tillmann

Berichterstatter: Professor Dr. D. Strauch

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juli 1969



Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung	1
II. Schrifttum	2
a) Mucosal Disease (MD)	2
1. Historische Entwicklung	2
2. Klinisches Bild	3
3. Pathologie	4
4. Übertragungsweise und Epizootologie	5
5. Eigenschaften des Erregers	6
6. Züchtungs- und direkte Nachweismethoden	7
7. Serologische Nachweismethoden	7
8. Antikörperbildung, Immunität und Vak- zination	8
b) Infektiöse bovine Rhinotracheitis/pustuläre Vulvovaginitis (IBR/IPV)	9
1. Historische Entwicklung	9
2. Klinisches Bild der IBR	10
Klinisches Bild der IPV	11
3. Pathologie	12
4. Übertragungsweise und Epizootologie	13
5. Eigenschaften des Erregers	14
6. Züchtungs- und direkte Nachweismethoden	15
7. Serologische Nachweismethoden	15
8. Antikörperbildung, Immunität und Vak- zination	16
c) Parainfluenza-3 (PI-3)	17
1. Historische Entwicklung	17
2. Klinisches Bild	18
3. Pathologie	19
4. Übertragungsweise und Epizootologie	19
5. Eigenschaften des Erregers	20
6. Züchtungs- und direkte Nachweismethoden	21
7. Serologische Nachweismethoden	22
8. Antikörperbildung, Immunität und Vak- zination	23

III. Material und Methoden	25
a) Zellkulturen	25
1. Lösungen	25
2. Anzüchtungstechnik	26
b) Viren	27
c) Antiseren	28
d) Rinderseren	28
e) Virustitration	28
f) Neutralisationstest	29
g) Hämagglutinationshemmungs(HAH)-Test	30
IV. Ergebnisse	31
a) Titration der Virusstämme	31
b) Titration der Seren	35
V. Besprechung der Ergebnisse	38
VI. Zusammenfassung der Ergebnisse	42
VII. Literaturverzeichnis	43
Lebenslauf	

I. Einleitung

Seit Anfang der sechziger Jahre gelang es auch in Deutschland, die Erreger der Mucosal Disease (MD) (LIESS und STÖBER, 1961), der infektiösen Rhinotracheitis bzw. pustulären Vulvovaginitis (IBR/IPV) (GRÜNDER, REULEAUX und LIESS, 1960; STRAUB und BÖHM, 1962; STRAUB, PLAB und KLEINE, 1965) und der Parainfluenza(PI)-3 (BÖGEL, 1961) des Rindes in Zellkulturen zu isolieren und zu charakterisieren. - Stämme dieser drei Virusarten konnten auch in unserem Laboratorium aus Rinderbeständen, in denen Tiere unter den typischen klinischen Erscheinungen erkrankt waren, angezüchtet und identifiziert werden (LUDWIG und PAULSEN, 1969; LUDWIG, PAULSEN, KAMINJOLO, unveröffentlicht). - Bei den vorliegenden Untersuchungen machten wir es uns zur Aufgabe, einen Überblick über die Verteilung von Antikörpern gegen diese wirtschaftlich bedeutsamen Infektionen innerhalb der Rinderpopulation des Landes Hessen zu bekommen.

II. Schrifttum

a) Mucosal Disease (MD)

1. Historische Entwicklung:

OLAFSON, McCALLUM und FOX beschrieben erstmalig im Jahre 1946 das klinische und pathologisch-anatomische Bild einer Rinderkrankheit im Staate New York, die aufgrund gelungener Übertragungsversuche mit bakterienfreien Filtraten als bovine Virusdiarrhoe (BVD) bezeichnet wurde (OLAFSON und RICKARD, 1947). - RAMSEY und CHIVERS berichteten 1953 von einer Erkrankung, die seit dem Jahre 1951 in Rinderbeständen des Staates Iowa beobachtet wurde und die in ihrer klinischen und pathologisch-anatomischen Manifestation der BVD sehr ähnlich war. Das beschriebene Krankheitssyndrom wurde jedoch zunächst wohl wegen seines schwereren Verlaufes und erfolgloser Übertragungsversuche mit der BVD nicht in Zusammenhang gebracht und erhielt den Namen Mucosal Disease (MD) (Schleimhautkrankheit).

Kreuzimmunisierungsversuche an Kälbern mit verschiedenen Virusstämmen ergaben die ersten Hinweise auf die immunologische Beziehung zwischen den Erregern der BVD und MD (zit. nach PRITCHARD, 1963). Nachdem es gelang, MD- und BVD-Virusstämme teils mit und teils ohne zytopathischen Veränderungen in Zellkulturen zu züchten und zu vermehren (LEE und GILLESPIE, 1957; UNDERDAHL et al., 1957; NOICE und SCHIPPER, 1959; GILLESPIE et al., 1960), konnte ihre antigene Verwandtschaft im Neutralisationstest bzw. Plaquereduktionstest (GILLESPIE et al., 1961; KNIAZEFF

und PRITCHARD, 1960; KNIAZEFF et al., 1961) und im Agargelddiffusionstest (PRITCHARD, 1963) in vitro nachgewiesen werden. Nach diesen Befunden sind die untersuchten Agentien zwar als nahe verwandt, jedoch nicht als identisch zu betrachten. Es wird jedoch heute angenommen, daß BVD und MD unterschiedliche Ausdrucksformen einer ätiologisch weitgehend einheitlichen Krankheit darstellen (LIESS, 1967).

Darstellungen der klinischen sowie pathologischen Veränderungen bei Fällen von BVD/MD in Deutschland kommen von SCHAAF (1955), VOSS (1959), STÖBER (1959) und SCHULZ (1959). LIESS und STÖBER (1961) konnten als erste den Erreger in Zellkulturen isolieren und identifizieren. Über erfolgreiche Übertragungsversuche des isolierten Agens berichtet LIESS (1967).

2. Klinisches Bild:

Die BVD/MD ist eine kontagiöse Erkrankung mit sehr unterschiedlichen klinischen Verlaufsformen. Neben leichten, nur einige Tage andauernden oder auch subklinischen Verläufen sind mittelgradige bis schwere akute und chronische Krankheitszustände beschrieben worden. Der akute Verlauf dauert in der Regel 10 - 14 Tage, der chronische zieht sich oft über 2 - 6 Monate hin. Die Krankheit beginnt mit einem Anstieg der Körpertemperatur bis auf 39,4 - 42,4°C, Leukopenie, Anorexie, Depression, Tachykardie, Polypnoe und Nasenausfluss, der zunächst serös ist, später jedoch mukös bis mukopurulent werden kann. Das Fieber hat oft diphasischen Charakter, wobei die erste

Zacke zwischen dem 2. bis 4., die zweite zwischen dem 7. bis 10. Krankheitstag liegt. Manche Tiere zeigen einen rauhen, trockenen Husten. Auf den Schleimhäuten der Lippen, der Dentalplatte und der Backen bilden sich zunächst höher gerötete, abgegrenzte Bezirke, die zu oberflächlichen Erosionen oder tiefgreifenden Ulzerationen führen können. In einigen Fällen entwickeln sich ähnliche destruktive Veränderungen auch auf den Schleimhäuten der vorderen Nasengänge, auf dem Flotzmaul und in der Perinealgegend. - In manchen befallenen Herden werden Lahmheiten infolge Laminitis oder ulzerativer bis nekrotischer Veränderungen des Zwischenklauenspaltcs beobachtet. - Im Vordergrund der Symptomatologie steht in der Regel die Gastroenteritis mit einer Diarrhoe, die einige Tage nach der ersten Fieberperiode einsetzt und bis zu mehreren Wochen kontinuierlich oder intermittierend persistieren kann. Die Faeces sind übelriechend und mehr oder weniger stark mit Schleim und häufig auch mit Blut durchsetzt. - Bei protrahierten Verläufen bilden sich oft, besonders bei jungen Tieren umfangreiche Hyperkeratosen der Haut. - Tragende Kühe können 10 Tage bis zu einigen Monaten nach der akuten Phase der Erkrankung abortieren (OLAFSON et al., 1946; PRITCHARD, 1963).

3. Pathologie:

Die verschiedenen klinischen Verlaufsformen der BVD/MD sind Ausdruck unterschiedlich stark ausgeprägter pathologisch-anatomischer Veränderungen, die jedoch grundsätzlich einen ähnlichen oder gleichen Charakter haben. - Die wichtigsten Veränderungen werden im Digestionsapparat gefunden.

In den Schleimhäuten des gesamten Verdauungstraktes beobachtet man Hyperämien, Ödeme und Hämorrhagien sowie Erosionen, Ulzerationen oder schließlich Nekrosen (OLAFSON et al., 1946; CARLSON et al., 1957; PRITCHARD, 1963). Die pathologischen Befunde, die an anderen Organen oder Organsystemen (Blut- und Lymphgefäßsystem, Urogenital- und Respirationsapparat) mehr oder weniger regelmäßig angetroffen werden, scheinen weniger pathognostisch zu sein.

4. Übertragungsweise und Epizootologie:

Das Virus wird durch direkten Kontakt von Tier zu Tier oder indirekt über unbelebte Zwischenträger übertragen. SCHIPPER und NOICE (1959) konnten mit Wasser und Futter, von dem zuvor kranke Tiere getrunken bzw. gefressen hatten, die BVD/MD auf gesunde Tiere übertragen. Das Virus wird offenbar mit Speichel und Nasensekret, sowie über den Kot ausgeschieden, und der Infektionsweg wird unter natürlichen Bedingungen oral verlaufen. PRITCHARD und CARLSON (1957) konnten den Erreger 5 Monate nach der Erkrankung noch im Kot feststellen. - Außer bei Rindern wurde die BVD/MD-Infektion, allerdings nur serologisch, bei Schafen und Schweinen nachgewiesen, ohne daß die Tiere Symptome der Erkrankung zeigten (BÖGEL, 1964; SEIBOLD und DOUGHERTHY, 1967). Solange jedoch die Ausscheidung des Virus durch diese Wirte nicht festgestellt wurde, ist ihre Bedeutung als latent infizierte Virusreservoir nicht eindeutig zu beweisen. - Experimentell ist die BVD/MD oral, intravenös, intramuskulär, subkutan und intranasal auf gesunde Rinder übertragbar (PRITCHARD, 1963). Bemerkenswert bei der künstlichen Infektion ist es,

daß die Tiere in der Regel nur milde klinische Erscheinungen entwickeln, obwohl auch schwere Verläufe provoziert werden können. Nach LIESS (1967) müssen bei der BVD/MD-Infektion noch "Hilfsfaktoren" beteiligt sein, die sich einer experimentellen Steuerung bislang entzogen haben.

5. Eigenschaften des Erregers:

Nach Untersuchungen von HERMODSON und DINTER (1962) an dem Stamm Oregon C 24 V ist das BVD/MD-Virus ein RNS-haltiges, äther- und chloroform-labiles Virus; der Durchmesser der sphärischen Partikel wird mit 40 μ angegeben. - Nach DITCHFIELD und DOANE (1964) besteht das Virus aus einem Nukleokapsid mit helikaler Struktur und einer lipidhaltigen Aussenhülle. Die Vermutung der Autoren, daß es sich um einen Vertreter der Myxovirus-Gruppe handelt, konnte bisher nicht bestätigt werden. - Bei ANDREWES und PEREIRA (1967) wird das BVD/MD-Virus unter den nichtklassifizierten, RNS-haltigen Viren aufgeführt. - Nach GUTENKUNST und MALMQUIST (1963, 1964, 1965) lassen sich zwei verschiedene Antigene trennen; ein an die infektiösen Partikel gebundenes Antigen, das die Bildung neutralisierender Antikörper induziert, und ein lösliches Antigen, das die Bildung von komplementbindenden und präzipitierenden Antikörpern bewirkt. - DARBYSHIRE (1960) wies als erster die Antigenverwandtschaft zwischen BVD/MD- und Schweinepestvirus im Agargelpräzipitationstest nach. Nach GUTENKUNST und MALMQUIST (1963, 1964) bezieht sich diese Verwandtschaft nur auf das lösliche Antigen, während KUMAGAI et al. (1962) und DINTER (1963) auch eine partielle Ver-

wandtschaft der Partikel-gebundenen Antigene annehmen. Ferkel, die mit BVD/MD-Virus vorbehandelt wurden, erwerben eine Immunität gegen Schweinepest (BECKENHAUER et al., 1961; SHEFFY et al., 1962).

6. Züchtungs- und direkte Nachweismethoden:

Seit den Untersuchungen von LEE und GILLESPIE (1957), UNDERDAHL et al. (1957), NOICE und SCHIPPER (1959) und GILLESPIE et al. (1960) ist es gebräuchlich, sowohl nicht-zytopathogenes als auch zytopathogenes BVD/MD-Virus in Einschichtzellkulturen aus homologem Gewebe anzuzüchten und zu vermehren. Es werden hauptsächlich Kulturen aus Nieren- und Hodengewebe des Kalbes verwendet. - Bei zytopathogenen Stämmen beginnen die Zellveränderungen 2 - 6 Tage nach der Inokulation (p.i.). Frische Virusisolate bewirken erst nach 10 - 12 Tagen eine vollständige Zerstörung des Zellrasens, die bei adaptierten Stämmen schon nach einigen Tagen abgeschlossen ist. - Nicht zytopathogene Stämme können mit Hilfe des Interferenztestes GILLESPIE et al., 1962; KNIAZEFF and McCLAIN, 1963), der Exaltation Newcastle disease (END)-Methode (INABA et al., 1963) oder der Immunofluoreszenztechnik (FERNELIUS, 1964) nachgewiesen werden.

7. Serologische Nachweismethoden:

Seit der Isolierung und Identifizierung eines zytopathogenen BVD/MD-Virusstammes (GILLESPIE et al., 1960) wurde es ermöglicht, auf einfache Weise Antikörper gegen dieses Virus mit Hilfe des Serumneutralisationstestes in vitro

nachzuweisen. Man bedient sich dabei entweder des Röhrchenneutralisationstestes (GILLESPIE et al., 1961), des Plaque-Reduktionstestes, der für das BVD/MD-Virus von KNIAZEFF und PRITCHARD (1960) beschrieben wurde, oder des Plättchentestes nach der von BÖGEL (1964) angegebenen Methode. Der Nachweis präzipitierender Antikörper im Agargel gelang nicht nur mit Präzipitinogen-haltigem Gewebe erkrankter Tiere (DARBYSHIRE, 1960 und 1962; WACHEN-DÖRFER, 1965), sondern auch mit Gewebekulturantigen (GUTERKUNST und MALMQUIST, 1963).

8. Antikörperbildung, Immunität und Vakzination:

Ein Antikörpertiter von 1:4 oder höher im Serumneutralisationstest bei einer Virusdosis von 100 - 200 KID₅₀ wird als Ausdruck einer stattgehabten Infektion mit dem BVD/MD-Virus angesehen. Bei künstlicher Infektion beginnt der Anstieg des Antikörpertiters nach ca. einer Woche, erreicht zwischen 5. und 6. Woche sein Maximum, um dann wieder auf ein niedrigeres Niveau abzusinken (MALMQUIST, 1968). Die Angaben über die Dauer der Titerpersistenz schwanken zwischen 13 und 18 Monaten (KAHRS, 1965). Über die Verhältnisse unter natürlichen Bedingungen konnten keine genaueren Angaben gefunden werden. - Maternale Antikörper können bei Kälbern 6 - 9 Monate persistieren (KAHRS, 1965). - Seruntiter von 1:8 oder höher stellen einen belastbaren Schutz gegen Infektionen mit virulentem Virus dar (BITTLE, 1968). - Berichte über den erfolgreichen Einsatz von lapinisierten und Gewebekultur-attenuierten Lebendvakzinen kommen von BAKER et al. (1954), YORK et al. (1960), KAHRS (1965) und BITTLE (1968). BITTLE (1968) empfiehlt, Kälber zwischen 1. und 3. Lebensmonat und ein zweites Mal im Alter von ca. 6 Monaten zu impfen.

b) Infektiöse bovine Rhinotracheitis/pustuläre Vulvovaginitis (IBR/IPV):

1. Historische Entwicklung:

SCHROEDER und MOYS und McINTYRE berichteten 1954 über eine fieberhafte Erkrankung der oberen Luftwege bei Rindern in Kalifornien. MILLER (1955) beschrieb ein ähnliches Krankheitsbild bei Rindern in Colorado, das als "infectious necrotic rhinotracheitis" bezeichnet wurde. Erfolgreiche Übertragungs- und Kreuzimmunisierungsversuche an Kälbern zeigten, daß die infektiösen Agentien der Krankheitsausbrüche in Kalifornien und Colorado ähnlicher Natur waren und daß es sich um Viren handeln mußte. Seither wird die Krankheit in der Literatur einheitlich als infectious bovine rhinotracheitis (IBR) bezeichnet (CHOW et al., 1955; McKERCHER et al., 1955). - MADIN et al. gelang 1956 die Anzüchtung und Passagierung des Virus in Zellkulturen. - In Deutschland wurde der Erreger zunächst von GRÜNDER et al. (1960), später auch von STRAUB et al. (1965) in Zellkulturen isoliert und identifiziert.

Einer Rinderkrankheit, die in der Literatur schon seit langem unter den verschiedensten Synonyma zu finden ist, wie vesicular venereal disease, vesicular vaginitis, coital exanthema, Bläschenausschlag, genital pox, wurde von KENDRICK et al. (1958) ein gemeinsames ätiologisches Agens zugrunde gelegt. Die Autoren konnten bei einem Fall von Vulvovaginitis in Zellkulturen ein zytopathogenes Virus isolieren, passagieren und auf Rinder rückübertragen und prägten für die Erkrankung den seither allgemein gebräuchlichen Namen "infectious pustular vulvovaginitis" (IPV). -

Die IPV ist dem von FENNER (1890) beschriebenen Bläschenausschlag des Rindes gleichzusetzen. REISINGER und REIMANN (1928) waren die ersten, die die Krankheit mit bakterienfreien Filtraten reproduzieren konnten (zit. nach KENDRICK et al., 1958). - STRAUB und BÖHM (1962) konnten das Virus als erste in Deutschland aus Präputialspülproben von Bullen, die an Bläschenausschlag erkrankt waren, anzüchten und identifizieren.

Seit den Untersuchungsbefunden von GILLESPIE et al. (1958, 1959), WAGNER und GILLESPIE (1959) und McKERCHER et al. (1959) ist es bekannt, daß die Erreger der IBR und der IPV eng verwandt sind. Virusstämme, die unabhängig voneinander bei Erkrankungen des Respirationsapparates bzw. des Genitaltraktes isoliert wurden, verhielten sich sowohl im Kreuzimmunisierungstest an Rindern als auch im Kreuzneutralisationstest auf Zellkulturen immunologisch und serologisch gleich. - Nach Ergebnissen von STRAUB et al. (1964) zeigten die von ihnen untersuchten IBR- und IPV-Virusstämme lediglich in der trägerfreien Zonenelektrophorese gewisse Unterschiede. Sie sind daher nicht als identisch, sondern als Subtypen der gleichen Virusart anzusehen.

2. Klinisches Bild der IBR:

Nach einer Inkubation von 4 - 6 Tagen ist das erste klinische Krankheitszeichen zunächst ein seröser Nasenausfluss. Bei Kühen wird plötzlicher Milchrückgang beobachtet. Nach 24 - 48 Stunden entwickelt sich Fieber mit einem Anstieg der Körpertemperatur auf 40,0 - 41,7°C, Hyperämie und Schwellung der Nasenschleimhäute, Husten und Konjunktivitis.

Oft klingt die Krankheit nach relativ leichten Symptomen in einigen Tagen vollkommen wieder ab, durchschnittlich jedoch zieht sich der akute Verlauf über 10 - 14 Tage hin. Die fieberhaften Allgemeinsymptome sind dann stärker ausgeprägt, der Nasenausfluß wird mukopurulent bis purulent, die Hyperämie der Schleimhäute greift auch auf die äussere Haut des Flotzmaules über ("red nose"), und oft bilden sich auf der Nasenschleimhaut pseudodiphtheroide Beläge. Schwere chronische Verlaufsformen mit Pneumonien werden meist durch bakterielle Sekundärinfektionen bestimmt (McKERCHER, 1959; YORK, 1968).

Klinisches Bild der IPV:

Die Inkubationszeit unter natürlichen Bedingungen wird im allgemeinen mit 2 - 3 Tagen angegeben. Die Veränderungen auf den Schleimhäuten der Vulva und der Vagina bestehen in Hyperämie, Schwellung und Entwicklung von zunächst punktförmigen Hämorrhagien, später von Knötchen, Bläschen und Pusteln. Die Pusteln können zusammenfließen und bilden dann gelblich-weiße fibrinöse Schleimhautbeläge, die bald abgestossen werden und Ulzerationen hinterlassen. In der Regel wird mässiger Ausfluss eines dickflüssigen, gelblichen Exsudates festgestellt. Fieber über 3 - 7 Tage kann in den meisten Fällen diagnostiziert werden. Der komplikationslose Verlauf führt nach ca. 10 - 12 Tagen zur Heilung. Beim Bullen kommt es zu einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Balanoposthitis, die unter ähnlichen klinischen Symptomen verläuft, wie die Vulvovaginitis der weiblichen Tiere (KENDRICK et al., 1958).

Infertilität (MARÉ und RENSBERG, 1961), Aborte (LUKAS et al., 1964; McKERCHER und WADA, 1964; KENDRICK und STRAUB, 1967), Konjunktivitis und Keratokonjunktivitis (ABINANTI und PLUMER, 1961; HUGHES et al., 1964), Encephalitis bei Kälbern (FRENCH, 1962 a, b; BARENFUS et al., 1963), letale Erkrankungen neugeborener Kälber (BAKER et al., 1960) werden ebenfalls mit IBR/IPV-Virusinfektionen in ätiologischen Zusammenhang gebracht.

3. Pathologie:

Der komplikationslose Verlauf der IBR ist durch eine akute, katarrhalische Entzündung der Schleimhäute der oberen Luftwege charakterisiert. Histologisch erscheint die Mucosa ödematös durchtränkt und zellig infiltriert. Die bei schwereren Verläufen auftretenden Pseudomembranen bestehen aus serofibrinösem Exsudat und abgestossenen nekrotischen Epithelzellen. In protrahierten Fällen sieht man häufig infolge bakterieller Sekundärinfektionen eitrige Bronchopneumonien (McKERCHER, 1959). CRANDELL et al. (1959) wiesen als erste bei künstlich infizierten Kälbern charakteristische intranukleäre Einschlusskörperchen in Epithelzellen des Respirationstraktes nach.

Die bereits klinisch erkennbaren makroskopischen Läsionen bei der IPV wurden bereits beschrieben. Mikroskopisch findet man intranukleäre Einschlusskörperchen in Schleimhautepithelzellen und starke leuko-lymphozytäre Infiltration. Die bläschen- oder pustelartigen Veränderungen erweitern sich histologisch als kompakte, herdförmige Anhäufungen von Entzündungszellen (KENDRICK et al., 1958).

4. Übertragungsweise und Epizootologie:

Das IBR-Virus wird durch Kontakt von Tier zu Tier übertragen. Die schweren klinischen Verlaufsformen der Rhinotracheitis treten hauptsächlich in großen Mast- und Milchviehbeständen auf, weniger in Weidebetrieben; das heißt also dort, wo viele Tiere auf engem Raum zusammengebracht sind. Man nimmt an, daß die in solchen Fällen möglichen, schnell aufeinanderfolgenden Passagen des Virus im Respirationstrakt seine Virulenz erheblich steigern (STRAUB, 1962; STRAUB und BÖHM, 1965). - Der mit dem IBR-Virus serologisch identische Erreger des Bläschenausschlages wird unter natürlichen Bedingungen hauptsächlich durch den Deckakt vom männlichen auf das weibliche Tier oder umgekehrt übertragen. Die Verbreitung des IPV-Virus durch Schwanzschlag benachbart stehender Kühe wurde von STRAUB und BÖHM (1965) experimentell bewiesen. Sie konnten ebenfalls zeigen, daß das Virus vom infizierten Genitaltrakt auf die Schleimhaut des Respirationsapparates übergehen kann, wenn die Tiere Gelegenheit haben, sich gegenseitig zu belecken. Die künstliche Übertragung von Virus aus dem Genitaltrakt auf die Schleimhäute der Atemwege führte in der ersten Passage nicht zur Auslösung klinischer Symptome, in der zweiten und dritten Passage jedoch konnte das typische Krankheitsbild der Rhinotracheitis erzeugt werden (STRAUB und BÖHM, 1965). - In der Regel treten Krankheitserscheinungen am Genital- und Respirationsapparat in der Folge einer IBR/IPV-Virusinfektion unter natürlichen Bedingungen nicht gleichzeitig auf. - Experimentell konnte das Virus nicht nur intranasal (MADIN et al., 1956) und intra-genital (KENDRICK et al., 1958) erfolgreich übertragen

werden, sondern auch intrafetal mit der Auslösung von Aborten (STRAUB, 1966), intrazisternal mit der Erzeugung von Mastitiden (STRAUB und KIELWEIN, 1966) und intrakraniell mit nachfolgenden enzephalitischen Erscheinungen (STRAUB und BÜHM, 1965). - STUDDERT et al. (1964) konnten bei Bullen eine Virusausscheidung bis zum 26. Tage p.i. feststellen. Nach Infektionsversuchen von KENDRICK (1958) ist das Virus 14 Tage p.i. im weiblichen Genitaltrakt nicht mehr nachweisbar. Bei der Rhinotracheitis ist das Virus nach 8 - 12 Tagen im Nasensekret nicht mehr zu finden (McKERCHER, 1959).

5. Eigenschaften des Erregers:

Das IBR/IPV-Virus wird auf Grund seiner Morphologie, des Typus seiner Einschlußkörperchen, seines zytopathischen Effektes und seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften zu den Herpesviren gezählt. Elektronenmikroskopisch zeigt das Nukleokapsid 162 Kapsomere und eine 5 : 3 : 2 Rotationssymmetrie. Der Durchmesser der Nukleokapside wird mit 95 - 99 μ angegeben (CRUICKSHANK und BERRY, 1965). Im Zellkern sind die Viruskapside von einer einfachen, im Zytoplasma von einer doppelten Hüllmembran umgeben. Die intakten Viria haben einen Durchmesser von ca. 150 μ (ARMSTRONG et al., 1961). - Das Virus enthält DNS (RUSSEL und CRAWFORD, 1964), wird durch Äther, Alkohol oder Aceton inaktiviert (GRIFFIN et al., 1958) und bildet intranukleäre eosinophile Einschlußkörperchen vom Typ Cowdry A (CHEATHAM und CRANDELL, 1957).

6. Züchtung und direkte Nachweismethoden:

Das IBR/IPV-Virus vermehrt sich in einer Vielzahl von Zellkultursystemen aus Gewebe unterschiedlicher Spezies mit charakteristischem zytopathischen Effekt (ZPE). Über bisher getestete Zellkulturarten auf ihre Empfänglichkeit gegenüber dem Virus ist bei RÖHRER (1967) eine ausführliche Übersicht gegeben. Für die Anzüchtung des Erregers aus Untersuchungsmaterial werden am besten Kulturen aus Nieren- oder Hodengewebe des Kalbes verwendet; die zytopathischen Veränderungen beginnen nach 2 - 3 Tagen. Bei passagierten Virusstämmen kommt es in niedrigen Verdünnungen nach 24 Stunden zu einem generalisierten ZPE, die Titerendpunkte sind nach spätestens 7 Tagen abzulesen (ARMSTRONG et al., 1961). - Das Virus bildet in Kälbernierenzellen Plaques, deren Zahl der inokulierten Viruskonzentration direkt proportional ist (HAHNEFELD und HAHNEFELD, 1962). - Mit Hilfe der Fluoreszenzantikörpertechnik kann spezifisches Antigen in Kulturzellen dargestellt werden (BINDRICH, 1963). - Intradermale oder intratestikuläre Infektion von Kaninchen führt zur Ausbildung lokaler Gewebsreaktionen; das Virus ist jedoch im Kaninchen nicht passagierbar (ARMSTRONG et al., 1961).

7. Serologische Nachweismethoden:

Neutralisierende Antikörper gegen das IBR/IPV-Virus werden im Serumneutralisationstest (MADIN et al., 1956) oder im Plaquereduktionstest (STEVENS und GROMAN, 1963) nachgewiesen. Ein Serumtiter von 1:2 oder höher im Serumneutralisationstest bei einer Virusdosis von ca. 100 KID₅₀

wird als spezifischer Antikörpernachweis gedeutet. - Weiterhin konnten Antikörper mit Hilfe des Agargelpräzipitationstestes und der Komplementbindungsreaktion (CARMICHAEL und BARNES, 1961) sowie mit Hilfe eines von WHITEMAN und HETRICK (1965) beschriebenen indirekten Häm-agglutinationstestes gefunden werden.

8. Antikörperbildung, Immunität und Vakzination:

Bei einer IBR- oder IPV-Infektion wird die Bildung neutralisierender Antikörper zuerst 10 - 14 Tage p.i. festgestellt (KENDRICK et al., 1958; McKERCHER, 1959). - Über den Verlauf der Titerkurven werden sehr unterschiedliche Angaben gemacht. Nach STRAUB (1967) erreicht der Antikörperspiegel zwischen 4. - 10. Woche p.i. sein Maximum, während McKERCHER (1959) nach einer IBR-Infektion ein kontinuierliches Ansteigen des Titers bis zum 10. Monat p.i. beobachtete. KAHRS (1965) und PLIMPTON (1966) berichteten, daß nach einer IBR die Antikörper in 80 - 90 % der Fälle bis zu 3 Jahren persistieren können. CHOW (1968) fand sogar eine Persistenz von 5 Jahren und länger. - KRETZSCHMAR et al. (1966) dagegen konnte nach einer IPV-Infektion Antikörper nur bis zum 4. - 5. Monat p.i. nachweisen. STRAUB (1967) hebt hervor, daß die Antikörper bei Rindern, die infolge einer IBR/IPV-Virusinfektion abortierten, relativ schnell wieder absinken. - Maternale Antikörper persistieren bei Kälbern bis zu 4 Monaten (BITTLE, 1968). - Nach YORK (1968) ist ein Serumtiter von 1:2 schon als ausreichend anzusehen, um Immunität gegen eine IBR-Reinfektion zu gewähren. STRAUB (1967) vertritt die Auffassung, daß Reinfektionen durch humorale

Antikörper nicht verhindert werden. - Gewebekultur-attenuierte Lebendvakzinen wurden von SCHWARZ et al. (1958), ZUSCHEK und CHOW (1961) und FASTIER und SMITH (1962) entwickelt. Impfungen wurden seither in den USA in grossem Umfange und offenbar mit gutem Erfolg durchgeführt (CASSELBERRY, 1968). Auf die Gefahr der Auslösung von Aborten nach Vakzination trächtiger Rinder wiesen ROBINSON et al. (1961) hin. Bestätigt wurden diese Vermutungen, als es gelang, das Virus aus Föten, die nach Impfung des Muttertieres abortiert wurden, zu isolieren (McKERCHER und WADA, 1964). Es wird daher empfohlen, bei tragenden Tieren auf die Impfung zu verzichten.

c) Parainfluenza-3 (PI-3)

1. Historische Entwicklung:

Das Parainfluenza-3-Virus wurde zuerst von GILLESPIE (1955), McKERCHER et al. (1958) und REISINGER et al. (1959) aus Rindern in den USA auf Zellkulturen isoliert. Die Tiere waren unter den klinischen Erscheinungen des sogenannten "shipping fever" erkrankt. McKERCHER et al. (1958) sowie REISINGER et al. (1959) gelang es, bei Rückübertragungsversuchen des Kulturvirus auf Kälber ähnliche respiratorische Krankheitszustände zu erzeugen. - Die schon seit langem bekannte Bezeichnung "shipping fever", die wohl mit dem im deutschen Sprachbereich bekannten Krankheitsbild der "Händlerpneumonie" gleichzusetzen ist, stellt einen klinischen Sammelbegriff für Erkrankungen verschiedenster Ätiologien dar. Die Parainfluenza-3-Infektion ist als eine

bestimmte Form des shipping fever anzusehen (SINHA und ABINANTI, 1962). - Um Klarheit zu schaffen, sollte man derartige Sammelnamen vermeiden, und die Krankheitszustände, soweit das möglich ist, nach ihrer speziellen Ätiologie benennen. - In Deutschland wurde das Parainfluenza-3-Virus zuerst von BÖGEL (1961) aus Kälbern mit respiratorischem Syndrom in Zellkulturen angezüchtet und charakterisiert.

2. Klinisches Bild:

Die Parainfluenza-3-Infektion des Rindes ist eine fieberhafte Erkrankung der respiratorischen Schleimhäute, die in der Regel gutartig verläuft, jedoch durch bakterielle Sekundärinfektionen (*Pasteurella multocida*) oder durch ungünstige Umweltfaktoren (Stressbedingungen) häufig erheblich kompliziert werden kann (SINHA und ABINANTI, 1962). - Infektionsversuche mit Kulturvirus, die von McKERCHER (1958) und REISINGER et al. (1959) an Kälbern vorgenommen wurden, hatten ein bis zwei Tage p.i. einen Anstieg der Körpertemperatur auf 40,0 - 40,5°C zur Folge. Die erhöhte Temperatur persistierte unterschiedlich lange (zwischen 1 - 7 Tagen). Außerdem zeigten die Tiere neben leichten fieberhaften Allgemeinsymptomen Rhinitis mit seromukösem Nasenausfluss und Konjunktivitis mit Tränenfluss. Bei ähnlichen Versuchen stellte BÖGEL (1961) nach experimenteller Infektion regelmässig Symptome einer Rhinotracheobronchitis fest, bei einem kolostrumfrei aufgezogenen Kalb entwickelte sich eine katarrhalische Pneumonie. Pneumonien konnten von BETTS et al. (1964) bei Kälbern, die durch Hysterektomie gewonnen und mit Sterilmilch aufgezogen wurden, regelmässig erzeugt werden.

Bei Kühen wurde das PI-3-Virus als Erreger einer Mastitis verantwortlich gemacht (KAWAKAMI et al., 1966) und bei trächtigen Tieren als Abortursache angesehen (SATTAR et al., 1965 und 1967). LUDWIG und PAULSEN (1969) gelang die Anzüchtung des Virus aus Exsudat einer Kuh mit katarrhalischer Vaginitis, Cervicitis und Endometritis; dieser Befund konnte jedoch nicht mit den beobachteten Krankheitserscheinungen in ätiologischen Zusammenhang gebracht werden.

3. Pathologie:

Neben einer mehr oder minder stark ausgeprägten katarrhalischen Rhinotracheobronchitis werden in den meisten Fällen bei der Sektion auch makroskopisch erkennbare pneumonische Veränderungen festgestellt, die sich klinisch häufig kaum äussern bzw. nicht diagnostiziert werden. Pathologisch-histologisch sieht man Bronchiolitis und Peribronchiolitis mit vorwiegend kleinzelliger Infiltration. In den Bronchialepithelien kommt es zu Nekrosen und Desquamation. Intrazytoplasmatische Einschlüsse werden im frühen Stadium der Erkrankung in Alveolar- als auch Bronchiolarepithelzellen angetroffen (BETTS et al., 1964; BÖGEL, 1961).

4. Übertragungsweise und Epizootologie:

Das Virus wird mit dem Nasenschleim ausgeschieden. Nach künstlicher intranasaler Infektion von Kälbern wurde eine Virusausscheidung über die Schleimhäute vom 2. bis zum 8. Tag p.i. nachgewiesen (WOODS et al., 1964). Die Über-

tragung von Tier zu Tier erfolgt auf aerogenem Wege. HEDDLESTON et al. (1962) konnten den Übergang der Infektion von klinisch erkrankten Tieren, die das Virus nachweislich mit dem Nasenschleim ausschieden, auf empfängliche Kontakttiere unter natürlichen Bedingungen beobachten. Nach 5 - 10 Tagen hatten sich auch bei den gesunden Kälbern die Symptome der PI-3-Infektion entwickelt. Epizootologisch wichtig sind die Befunde von ABINANTI et al. (1960), die das Virus aus Nasensekret klinisch inapparent infizierter Kälber anzüchten konnten. - PI-3-Viren haben ein relativ breites Wirtsspektrum. Sie wurden bisher außer von Rindern auch von Menschen (ABINANTI und HUEBNER, 1959), Schafen (HORE, 1966) und Pferden (DITCHFIELD et al., 1963) isoliert und serologisch unter anderem bei Schafen, Schweinen und Hunden nachgewiesen (WOODS et al., 1965; SANDOW und SCHMIDT, 1967). Humane und bovine PI-3-Virusstämme sind zwar als antigenetisch eng verwandt, jedoch nicht als identisch anzusehen (ABINANTI et al., 1961). Welche epizootologischen Wechselbeziehungen zwischen PI-3-Infektionen von Mensch und Tieren bzw. verschiedenen Tierspezies untereinander bestehen, ist noch nicht eindeutig geklärt worden (SANDOW und SCHMIDT, 1967).

5. Eigenschaften des Erregers:

Das PI-3-Virus des Rindes gehört in die Gruppe der Paramyxoviren (ANDREWES und PEREIRA, 1967). Nach elektronenoptischen Untersuchungen haben intakte Viruspartikel einen Durchmesser von 140 - 250 m μ . Die Innenkomponente zeigt

helikale Struktur und ist von einer Aussenhülle umgeben (WATERSON et al., 1961). Das Virus enthält RNS und ist äther- und chloroformempfindlich (WOODS, 1968), außerdem wurde bei einer Reihe von Stämmen unterschiedlicher Herkunft Neuraminidaseaktivität festgestellt (DRZENIEK et al., 1967). Erythrozyten von Meerschweinchen, Rind, Schwein, Mensch, Schaf und Huhn werden durch das Virus agglutiniert. Aufgrund unterschiedlicher Agglutinationsfähigkeit gegenüber Erythrozyten der genannten Spezies konnte eine gewisse Variabilität der untersuchten Virusstämme nachgewiesen werden (HAMDY, 1965). Nach vergleichenden Untersuchungen von BÖGEL (1961) sollen sich PI-3-Stämme auch auf Grund ihrer Fähigkeiten, in Kulturzellen Syncytien oder intranukleäre Einschlüsse zu bilden, unterscheiden lassen. Die Bildung intraplasmatischen Einschlussmaterials kann bei allen Stämmen nachgewiesen werden.

6. Züchtungs- und direkte Nachweismethoden:

Bovine PI-3-Virusstämme vermehren sich unter anderem in Kälber-, Schweine-, Kaninchen-, Pferdenieren-, Hela- und KB-Zellen (SINHA und ABINANTI, 1962; WOODS, 1968) sowie in der Amnionhöhle embryonierter Hühnereier (BÖGEL, 1961). In Zellkulturen kommt es bei den einzelnen Virusstämmen zu mehr oder weniger stark ausgeprägten zytopathischen Veränderungen. Zur Anzüchtung des Virus aus Untersuchungsmaterial verwendet man in der Regel Kulturen aus homologem Gewebe (Kälbernieren oder Kälberhoden); MARSHALL (1964) hält jedoch die Beimpfung des Amnions 14-tägiger Hühnerembryonen für die günstigste Methode, den Erreger zu isolieren. - Die zytopathischen Veränderungen in Zellkulturen

beginnen bei der Verimpfung von niedrigen Virusverdünnungen ca. 24 Stunden p.i. und führen bei Titrationen auch in den Endverdünnungen nach 5 - 7 Tagen zur vollständigen Destruktion des Zellrasens (BÖGEL, 1961). Infizierte Kulturzellen haben die Eigenschaft, Erythrozyten zu adsorbieren, während im Kulturüberstand hämagglutinierendes Material nachgewiesen werden kann. Nach Untersuchungen von LUDWIG und PAULSEN (1969) an drei bovinen PI-3-Virusstämmen konnte HämadSORPTION bereits vor dem Auftreten zytopathischer Veränderungen 12 Stunden p.i. und Hämagglutinin im Kulturüberstand 22 - 26 Stunden p.i. festgestellt werden. Virusantigen wurde im Zytoplasma mit Hilfe fluoreszierender Antikörper bereits vor der Ausbildung der HämadSORPTION sichtbar gemacht (LUDWIG und PAULSEN, 1969).

7. Serologische Nachweismethoden:

Antikörper gegen das PI-3-Virus können mit Hilfe des Hämagglutinationshemmungs-(HAH)-, des Neutralisations(N)-Testes und der Komplementbindungsreaktion (KBR) nachgewiesen werden (REISINGER et al., 1959; ABINANTI et al., 1961). Während der HAH- und N-Test etwa die gleiche Empfindlichkeit besitzen, kommt der KBR eine geringere Bedeutung zu, da die Ausbildung KB-Antikörper nicht regelmässig oder nur kurzzeitig beobachtet werden kann (ABINANTI et al., 1961). Der HAH-Test ist aus arbeitstechnischen Gründen dem N-Test vorzuziehen. HAH-Serumtitrier von 1:16 oder höher werden als positiv beurteilt (BÖGEL und KLINGER, 1962).

8. Antikörperbildung, Immunität und Vakzination:

Nach künstlicher Infektion erscheinen ca. 7 Tage p.i. hämagglutinationshemmende und neutralisierende Antikörper im Blutserum, die Titer erreichen um den 14. Tag p.i. ihr Maximum, sinken darauf allmählich wieder ab und bleiben noch ca. 8 Monate nachweisbar. Kommt es zur Bildung komplementbindender Antikörper, so erreichen diese auch etwa nach 14 Tagen ihr höchstes Niveau, fallen dann aber relativ schnell wieder ab und persistieren in niedriger Konzentration nur etwa 2 Monate (ABINANTI et al., 1961). - Antikörper, die von Kälbern mit der Kolostralmilch aufgenommen werden, können nach Untersuchungen von BÖGEL und LIEBELT (1963) 4 - 5 Monate persistieren. - Den Serumantikörperspiegel als Kriterium für die Immunitätslage des betreffenden Tieres anzusehen, erscheint zweifelhaft. Klinisch manifeste Reinfektionen wurden auch bei Tieren mit relativ hohen Antikörpertitern beobachtet (SINHA und ABINANTI, 1962). Vielmehr scheint die Gewebsimmunität der respiratorischen Schleimhäute von besonderer Bedeutung zu sein. Während es bei Kälbern, die lediglich humorale Antikörper durch die Aufnahme von Kolostrum erworben hatten, nach intranasaler Applikation einer Lebendvakzine in den meisten Fällen zur Vermehrung und Ausscheidung des Impfvirus durch die Schleimhäute kam, wurde bei Tieren, die auf Grund einer natürlichen Infektion eine aktive Gewebsimmunität entwickelt hatten, die Haftung des Impfvirus verhindert (BÖGEL und LIEBELT, 1963 a und b). Die Verwendung einer Gewebekultur-attenuierten Lebendvakzine erwies sich bei Versuchen an kolostrumfrei aufgezogenen Kälbern als unschädlich und bewirkte die Ausbildung einer belastbaren Immunität (BÖGEL und LIEBELT, 1962). Die Erprobung dieser

Vakzine unter Praxisbedingungen zeigte, daß durch intranasale Impfung die gleiche Gewebsimmunität erzeugt werden kann, wie sie sich nach natürlicher Infektion entwickelt (BÖGEL und LIEBELT, 1963). Da bei Kälbern die Ausbildung der Immunität durch die Anwesenheit humoraler Antikörper kolostraler Herkunft gehemmt werden kann, ist die Impfung zu wiederholen. Es wird empfohlen, alle Tiere eines Bestandes bis zu einem Alter von 2 Jahren in mindestens jährlichem Turnus intranasal zu vakzinieren (BÖGEL und LIEBELT, 1962).

III. Material und Methoden

a) Zellkulturen

1. Lösungen:

Zusammensetzung des Zellanzuchtmediums (AM)

Hank'sche Salzlösung (10-fach konzentriert)	9,0 ml
TC 199 Medium (10-fach konzentriert)	1,0 ml
Aqua bidest.	65,0 ml
Laktalbuminhydrolysat (Difco) (5 %ig in Hank'scher Lösung)	10,0 ml
Kälberserum (inaktiviert)	10,0 ml
Phenolrotlösung (0,2 %ig in Aqua bidest.)	1,0 ml
Glukoselösung (20 %ig in Aqua bidest.)	0,5 ml
Hefeextrakt (10 %ig in Aqua bidest.)	0,1 ml
NaHCO ₃ (2,8% in Aqua bidest.)	2,5 ml
Penicillin/Streptomycinlösung (10000 E Pen./ml; 10 mg Strept./ml in Aqua bidest.)	1,0 ml
Neomycin (1 %ig in Aqua bidest.)	0,5 ml
Mycostatin (10000 E/ml in Aqua bidest. suspendiert)	0,25 ml
Kanamycin (10 mg/ml in Aqua bidest.)	1,0 ml

Der pH-Wert des Mediums liegt bei 7,1.

Erhaltungsmedium (EM)

Das EM hat die gleiche Zusammensetzung wie das AM, nur wird anstelle des Kälberserums 2 % Pferdeserum zugesetzt, die Konzentration des NaHCO_3 wird verdoppelt und der Hefeextrakt fehlt. Der pH-Wert des EM liegt bei 7,2.

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)

PBS wurde in der Zusammensetzung von DULBECCO und VOGT (1957) verwendet.

Trypsinlösung

Zur Aufschließung des Gewebes gebrauchten wir eine 0,25 %ige Trypsin(Difco)-Lösung in PBS.

Versen-Trypsin-Lösung

Zur Trypsinierung von primären Zellkulturen wurde eine 0,25 %ige Trypsinlösung in Phosphatpuffer verwendet, die 1:5 mit einem 0,02 %igen Versen-Phosphatpuffer verdünnt wurde. Der dabei verwendete Phosphatpuffer enthält keine Kalzium- und Magnesiumionen.

2. Anzüchtungstechnik:

Wir verwendeten für die Untersuchungen ausschließlich sekundäre Zellkulturen aus Kälberhodengewebe. Dazu wurden der Nebenhoden und die Hodenhüllen entfernt, das Hodengewebe steril entnommen, grob zerkleinert, einige Male mit PBS gewaschen, in Trypsinlösung aufgenommen und über Nacht (ca. 18 Stunden) bei $+4^{\circ}\text{C}$ auf dem Magnetrührer trypsiniert. Die so erhaltene Zellsuspension wurde durch sterilen Mull kolliert, die Zellen niedrigtourig abzen-

trifugiert, einmal in AM aufgenommen und gewaschen, darauf in einer Dichte von ca. 500 000 Zellen/ml in AM suspendiert und in Roux-Flaschen (80 ml/Flasche) ausgesät. Nach einer Bebrütungszeit von ca. 3 - 4 Tagen bei 37°C hatte sich ein geschlossener Zellrasen gebildet. Für unsere Untersuchungen wurden die primären Zellrasen in den Rouxflaschen mit Versen-Trypsin aus ihrem Verband gelöst, erneut in AM suspendiert und in Gewebekulturröhrchen subkultiviert. Jedes Röhrchen wurde mit 2 ml Zellsuspension beschickt. Aus einer Rouxflasche konnten auf diese Weise 80, 160 oder auch 240 Röhrchen gewonnen werden, die dann nach ca. 1, 2 oder 3 Tagen Bebrütung ausgewachsen waren. Vor der Beimpfung wurde das AM abgesaugt und durch EM ersetzt.

b) Viren

Als BVD/MD-Virusstamm diente V 258/63, der nach BÜRKI et al. (1964) mit dem Referenzstamm Oregon C 24 V (GILLESPIE et al., 1960) identisch ist. - Als IBR/IPV-Stamm wurde V 123 verwendet, der auf das Virusisolat von MADIN et al. (1956) zurückgeht. Beide Stämme lagerten als virushaltige Gewebekulturflüssigkeit bei -70°C. Für die Überlassung der Agentien danken wir Herrn Professor Dr. Fey und Herrn Dr. Steck, Vet.-Bakteriologisches Institut, Bern. - Außerdem stand ein lyophilisiertes Parainfluenza-3 Lebendvirusantigen zur Verfügung, das uns dankenswerterweise von der Fa. Rentschler und Co., Laupheim, zur Verfügung gestellt wurde.

c) Antiseren

BVD/MD- und IBR/IPV-Antiseren wurden uns freundlicherweise von Herrn Professor Dr. Liess, Hannover, und Herrn Dr. Straub, Tübingen, lyophilisiertes PI-3-Kontrollserum von der Fa. Rentschler und Co., Laupheim, überlassen. BVD/MD- und das IBR/IPV-Serum wurden bei -30°C konserviert, das lyophilisierte PI-3-Serum lagerten wir bei Kühlschranktemperatur.

d) Rinderseren

Zur serologischen Untersuchung standen 1034 Rinderseren, die aus den Einzugsgebieten der Veterinäruntersuchungsämter Kassel, Giessen und Frankfurt stammten, und die willkürliche Stichproben aus ca. 600 Einzelbeständen darstellen, zur Verfügung. Sie wurden 30 Minuten bei 56°C inaktiviert und bis zum Gebrauch bei -30°C konserviert. Für die Überlassung der Seren danken wir Herrn Dr. Kauker, Herrn Dr. Kuwilsky und Herrn Professor Dr. Schoop.

e) Virustitrationen

Das BVD/MD- und das IBR/IPV-Virus wurden in Röhrchen auf sekundären Kälberhodenzellkulturen titriert. Dazu verdünnten wir die virushaltige Kulturflüssigkeit in Zehnerpotenzen, beimpften mit jeder Verdünnungsstufe 4 Röhrchen mit jeweils 0,1 ml, inkubierten bei 37°C und musterten

die Kulturen täglich auf zytopathische Veränderungen durch. Die Titerendpunkte wurden in $KID_{50}/0,1$ ml angegeben und nach der Methode von REED und MUENCH (1938) errechnet.

Das PI-3-Antigen wurde im Hämagglutinations(HA)-Test mit Meerschweinchenerythrozyten titriert. Dazu verdünnten wir das Antigen in Zweierpotenzen in physiologischer Kochsalzlösung, beschickten die Verdünnungsreihe mit gleichen Volumina einer 0,5 %igen Erythrozytensuspension und inkubierten 30 Minuten bei $37^{\circ}C$ im Wasserbad. Als Titerendpunkte wurde die Antigenverdünnung angesehen, die noch vollständige HA bewirkte; sie entspricht einer HA-Einheit.

f) Neutralisationstest

Antikörper gegen das BVD/MD- und das IBR/IPV-Virus wurden im Röhrchenneutralisationstest nachgewiesen. Dazu wurden gleiche Volumina einer konstanten Virusdosis (ca. $100 KID_{50}$) und verschiedener Serumverdünnungen gemischt und eine Stunde bei $37^{\circ}C$ im Wasserbad inkubiert. Bei der Untersuchung auf BVD/MD-Antikörper verwendeten wir die Serumverdünnungen 1:10 und 1:80, für den IBR/IPV-Neutralisationstest beschränkten wir uns auf eine Verdünnung von 1:5. Pro Serumverdünnung beimpften wir jeweils 2 Zellkulturröhrchen mit 0,2 ml des Virus-Serumgemisches und inkubierten bei $37^{\circ}C$. Die Kulturen wurden täglich durchgemustert. Als Serumtiter gaben wir die Verdünnungsstufe an, welche die inokulierte Virusdosis in beiden Röhrchen noch vollständig neutralisierte. Bei jedem Ansatz wurde der betreffende Virusstamm erneut austitriert, um die Virusdosis im Neutralisationstest zu überprüfen. - Bei den positiven IBR/IPV-Seren titrierten wir die Endpunkte später aus, was bei den BVD/MD-Seren mit einem Titer von 1:80 unterblieb.

g) Hämagglutinationshemmungs(HAH)-Test

Bei der Untersuchung auf PI-3-Antikörper verwendeten wir den HAH-Test. Zur Entfernung von Isoagglutininen wurde zunächst jeweils 0,2 ml des Testserums mit 0,6 ml PBS und 0,8 ml einer 10 %igen Meerschweinchenerythrozyten-Suspension gemischt, gut geschüttelt und eine Stunde bei 37°C im Wasserbad gehalten. Anschließend wurde zentrifugiert (5 Min. bei 3000 U/min.) und der gewonnene Überstand in einer Erythrozytensuspension in Zweierpotenzen verdünnt, sodaß in jedem Röhrchen eine Erythrozytenkonzentration von 0,5 % entstand. Auf diese Weise kam im ersten Röhrchen eine Serumverdünnung von 1:16 zustande. Jedes Serum wurde bis zu einer Verdünnung von 1:512 titriert. Die so erhaltenen Serumverdünnungen wurden jeweils mit dem gleichen Volumen einer konstanten Antigendosis, die 4 HA-Einheiten enthielt, gemischt, 30 Min. bei 37°C im Wasserbad bebrütet und anschließend noch ca. 2 Stunden bei Zimmertemperatur stengelassen. Als Serumtitersahen wir die Verdünnung an, welche noch eine vollständige Hemmung der Agglutination bewirkte. Bei jedem Ansatz wurde das Antigen erneut titriert, um die Dosis im HAH-Test zu überprüfen. Außerdem wurde stets das positive Kontrollserum und ein bekannt negatives Serum parallel ausgetestet. - Rinderseren, deren Endpunkte wir bei einer Verdünnung von 1:512 nicht erreichten, wurden nicht weiter austitriert.

IV. Ergebnisse

a) Titration der Virusstämme

Der Titer des BVD/MD-Virusstammes V 258 in sekundären Kälberhodenzellkulturen lag bei ca. $10^{5,0}$ KID₅₀/0,1 ml. In den niedrigen Verdünnungsstufen wurden am 3. - 4. Tag p.i. deutliche zytopathische Veränderungen sichtbar. Die Titerendpunkte konnten nach ca. 7 Tagen abgelesen werden. - Zu Beginn des ZPE erscheinen einzelne Zellen oder Zellbezirke stärker lichtbrechend und granuliert, die Zellen runden sich ab und schrumpfen schließlich zusammen (Abb. 1). Dieser Prozess breitet sich über den gesamten Zellrasen aus, wobei die Zellen oft bis zur vollständigen Zerstörung durch spitz auslaufende Zytoplasmaprotrusionen verbunden bleiben (Abb. 2), sich jedoch schließlich einzeln oder in Klumpen zusammengeballt von der Gefäßwand ablösen. Häufig fallen außerdem vakuolisierende Degenerationen des Zytoplasmas ins Auge (Abb. 3).

Der IBR/IPV-Virusstamm V 123 hatte einen Titer von ca. $10^{7,5}$ KID₅₀/0,1 ml. In niedrigen Verdünnungen war bereits nach 24 Stunden ein deutlich ausgebreiteter ZPE sichtbar, während in höheren Verdünnungen zu diesem Zeitpunkt schon die Ausbildung von Mikroplaques beobachtet werden konnte. Die infizierten Kulturzellen kugeln sich ab (Abb. 4), schwellen an und zeigen teilweise eine deutliche Tendenz zur Riesenzellbildung. Die Riesenzellen haben meistens mehrere Zytoplasmaausläufer, durch die sie brückenartig mit den benachbarten Zellen in Verbindung stehen (Abb. 5). Der ZPE führt schließlich auch bei den Endverdünnungen des Virus nach 3 - 5 Tagen p.i. zur vollständigen Lysis des Zellrasens.

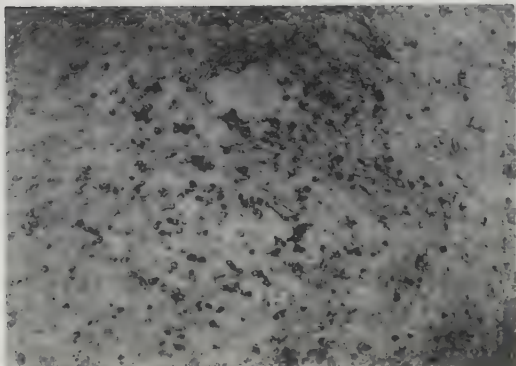


Abb. 1: Kälberhoden(KH)-Zellkultur
mit BVD/MD-Virusstamm V 258
infiziert.
Beginnender ZPE.

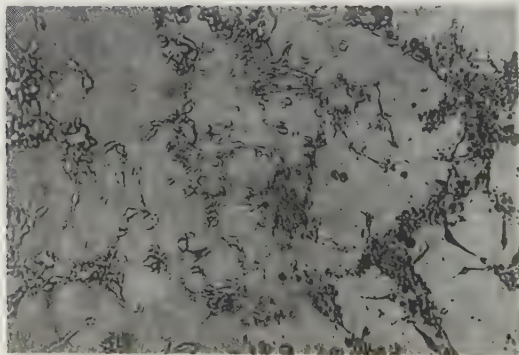


Abb. 2: KH-Zellen mit BVD/MD-Virus-
stamm V 258 infiziert.
Ausgebreiteter ZPE.

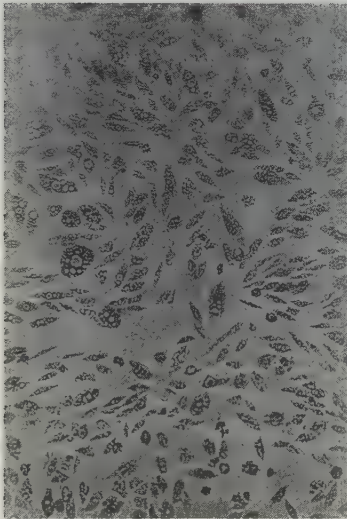


Abb. 3: Kulturzellen mit vakuolisierender zytoplasmatischer Degeneration nach Infektion mit BVD/MD-Virus.

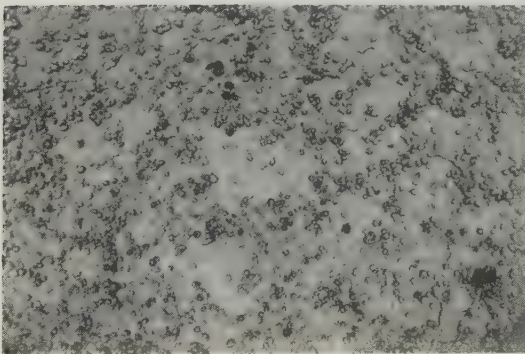


Abb. 4: KH-Zellen mit IBR/IPV-Virusstamm V l23 infiziert. Ausgebreiteter ZPE

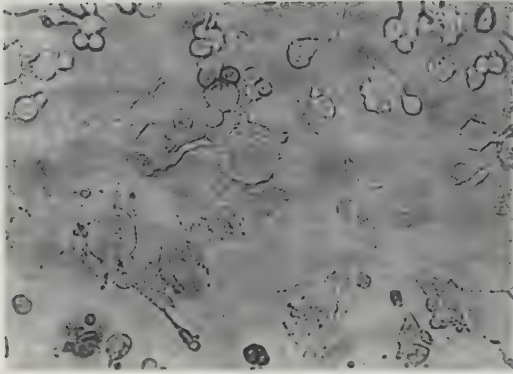


Abb. 5: KH-Kultur mit IBR/IPV-Virus
infiziert.
Riesenzellen mit Zytoplasma-
protrusionen.



Abb. 6: Unbeimpfte Kälberhoden-
Zellkultur

Das PI-3-Virusantigen hatte im HA-Test mit Meerschweinchenerythrozyten einen Titer von 1:256. Die Ergebnisse konnten am deutlichsten abgelesen werden, wenn die Röhrchen nach der Inkubation noch ca. 2 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten wurden. In dieser Zeit waren die nichtagglutinierten Erythrozyten deutlich in die Röhrchenkuppe sedimentiert.

b) Titration der Seren

Das als positives Vergleichsserum benutzte BVD/MD-Antiserum zeigte in Gegenwart von 100 KID₅₀ des verwendeten Virusstammes V 258 einen Neutralisationstiter von 1:640. Da der Virusstamm relativ langsam eindeutige zytopathische Veränderungen hervorrief, wurden die letzten Ergebnisse im Neutralisationstest stets erst am 7. Tag p.i. abgelesen.

Von den untersuchten 1034 Seren aus hessischen Rinderbeständen zeigten 591 (= 57,1 %) Antikörpertiter gegen das BVD/MD-Virus (Tab. 3). Bei 219 dieser positiven Tiere (= 37,1 %) lagen die Titer bei 1:10 bzw. zwischen 1:10 und 1:80, bei den restlichen 372 (= 62,9 %) bei 1:80 oder höher. Aus der Standardabweichung für Prozentwerte (siehe HASELOFF und HOFFMANN)

$$S_p = \sqrt{\frac{P(100 - P)}{n}}$$

und dem Faktor 1,96 (t-Tabelle für Freiheitsgrade (FG) = ∞), ergibt sich bei einem 95 %igen Signifikanzniveau, daß bei 54,1 - 60,1 % der Rinderpopulation Hessens mit

BVD/MD-Antikörpern zu rechnen ist.

Der Titer des als positives Kontrollserum benutzten IBR/IPV-Antiserums lag in Gegenwart von 100 KID₅₀ des Stammes V 123 zwischen 1:40 und 1:80. - Die Neutralisationsteste mit diesem Virus konnten schnell und leicht abgelesen werden, da die typischen zytopathologischen Veränderungen schon nach relativ kurzer Zeit deutlich in Erscheinung traten. Auf diese Weise war es möglich, Ansätze mit negativen Seren schon innerhalb von 1 - 2 Tagen zu verwerfen. Bei den positiven Seren wurden die Röhrchen jedoch noch bis zum 7. Tag p.i. laufend kontrolliert.

Von den insgesamt 1034 Rinderseren wurden 18 Proben (= 1,7 %) als IBR/IPV-positiv beurteilt (Tab. 3), was bei einem 95 %igen Signifikanzniveau 0,92 - 2,48 % der Rinderpopulation Hessens entspricht. Tabelle 1 zeigt die Titrationsergebnisse der positiven Seren.

Tab. 1: Aufteilung der von 1034 untersuchten 18 positiven IBR/IPV-Seren nach Titerhöhen

Titer	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80
Zahl	2	10	3	2	1

Der Hämagglutinationshemmungstiter des positiven PI-3-Kontrollserums schwankte zwischen 1:256 und 1:512. Der HAH-Test konnte am klarsten abgelesen werden, wenn die Ansätze nach der Inkubation noch ca. 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen blieben.

828 (= 80 %) der untersuchten 1034 Rinderseren wiesen HAH-Antikörpertiter gegen das PI-3-Virus auf (Tab. 3). Somit liegt bei einem 95 %igen Signifikanzniveau der Prozentwert serologisch positiver Tiere zwischen 77,6 und 82,4 %. Aus der Tabelle 2 ist die prozentuale Titerverteilung der positiven PI-3-Seren zu ersehen.

Tab. 2: Prozentuale Verteilung der Titerhöhen gegen das PI-3-Virus bei 828 positiven von insgesamt 1034 untersuchten Seren

Titer	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512 oder höher
Zahl	48	90	135	176	185	194
%	5,8	10,9	16,3	21,3	22,3	23,4

Tab. 3: Verteilung der Rinder mit Antikörpertitern gegen das BVD/MD-, IBR/IPV- und PI-3-Virus in Hessen

Virus MD IBR/IPV PI-3			
Einzugsgebiet			
Frankfurt Giessen	137/239	2/239	185/239
Kassel	454/795	16/795	643/795
Total	591/1034	18/1034	828/1034
%	57,1 %	1,7 %	80,0 %

V. Besprechung der Ergebnisse

Wenn serologische Untersuchungen dieser Art durchgeführt werden, müssen bei der Auswertung der Ergebnisse einige Faktoren besonders berücksichtigt werden. Die Antikörperbildung kann sowohl Ausdruck einer immunologischen Reaktion auf einen echten Krankheitsausbruch als auch auf eine klinisch inapparente Infektion sein. Sowohl bei BVD/MD- als auch bei IBR/IPV- und PI-3-Infektionen sind neben klinisch manifesten subklinische Verlaufsformen bekannt. Bei unseren Untersuchungen war es nicht möglich, genaue Kenntnis darüber zu bekommen, ob und wann in den betreffenden Rinderbeständen Krankheiterscheinungen, die auf Infektionen mit den von uns verwendeten Erregern ätiologisch zurückzuführen wären, beobachtet wurden. Daher konnten die Ergebnisse speziell unter diesem Gesichtspunkt nicht ausgewertet werden. - Weiterhin darf nicht übersehen werden, daß die Persistenzdauer der Serumantikörper, die bei den einzelnen Infektionen sehr verschieden ist, die Zahl der serologisch positiven Reagenten und die Titerhöhe der untersuchten Seren für die einzelnen Erreger unterschiedlich beeinflusst. - Schließlich muß sich das Alter der untersuchten Tiere auf die Ergebnisse auswirken, weil bei jungen Tieren auch noch maternale Antikörper kolostraler Herkunft erfasst werden können. Da die von uns untersuchten Seren fast ausschließlich von ausgewachsenen Rindern stammen, kann man voraussetzen, daß die gefundenen Antikörpertiter als eine aktive Auseinandersetzung mit den betreffenden Infektionserregern zu deuten sind, denn die mit dem Kolostrum aufgenommenen BVD/MD-, IBR/IPV- und PI-3-Antikörper sind in der Regel schon nach 4 - 6 Monaten nicht mehr nachweisbar.

Das klinische und pathologisch-anatomische Bild der BVD/MD ist in Hessen seit langem bekannt (SCHOOB und WACHENDÖRFER, 1963). WACHENDÖRFER (1965) konnte in einem hessischen Rinderbestand die BVD/MD mit Hilfe der Agargel-Präzipitationsreaktion diagnostizieren, in unserem Laboratorium gelang die Isolierung des Virus in Zellkulturen. - Unsere serologischen Übersichtsuntersuchungen haben ergeben, daß bei ca. 57 % der Rinderpopulation Hessens mit Antikörpern gegen diesen Erreger zu rechnen ist. Der relativ hohe Prozentsatz der positiven Tiere, die Titer von 1:80 oder höher aufwiesen (62,9 %) liesse sich damit erklären, daß ein ständiges, aber bisher unbekanntes Virusreservoir vorhanden sein muss und daher häufige Reinfektionen ermöglicht werden. Man darf annehmen, daß derartige Reinfektionen subklinisch oder unter dem Bild sehr milder Krankheitssymptome verlaufen, wie es auch von BÖGEL und VOSS (1964) aus dem norddeutschen Raum beschrieben wird. Diese Autoren fanden in BVD/MD-verdächtigen Beständen Norddeutschlands 75,3 % serologisch positive Rinder, in unverdächtigen Beständen 44,4 %. Bei weiteren 1031 Rindern Norddeutschlands wurden 72 % positive Fälle ermittelt (BÖGEL und NEUMANN, 1964), während in Südwestdeutschland die Infektion offenbar in geringerem Umfange (19,4 %) bei Rindern auftritt (BÖGEL, 1963). Inwieweit sich das Bild seither geändert hat, ist nicht zu übersehen. Auffällig ist aber, daß der Prozentsatz serologisch positiver Tiere in Norddeutschland am höchsten liegt und nach Süden hin deutlich abnimmt. Diese regionalen Unterschiede wären damit erklärlich, daß sich der Erreger von Norddeutschland ausgehend nach Süden ausbreitet oder daß die verschiedenen Gebiete sich durch besondere epizootologische Verhältnisse unterscheiden (BÖGEL und VOSS, 1965). Da über die Biologie des BVD/MD-Virus jedoch bislang zu wenig bekannt

ist, kann diese Frage nicht sicher beantwortet werden. - In klinisch unverdächtigen Schafherden Süddeutschlands fand BÖGEL (1964) 37,6 % positive Reagenten. Welche Bedeutung jedoch dem Schaf oder auch anderen Spezies für die Epizootologie der BVD/MD zukommt, ist noch nicht bekannt.

Der relativ niedrige Prozentsatz serologisch positiver Tiere bei der Untersuchung auf IBR/IPV-Antikörper (1,7 %) steht im Einklang mit den Ergebnissen von BÖGEL, KORN und LORENZ (1962), die unter 244 Tieren 3 positive fanden und von WIZIGMANN (1962), der bei 160 Tieren keine Reagenten feststellte. DAWSON und DARBYSHIRE (1964), die im gesamten United Kingdom 2000 Rinder serologisch überprüften, kamen auch dort nur zu einem Prozentwert von 2,1 % positiver Tiere. Dagegen berichtet STRAUB (1962) von 33,2 % positiven Seren bei insgesamt 151 Proben, die aus 18 Beständen verschiedener Teile Deutschlands entnommen wurden. Dazu wird jedoch bemerkt, daß die Hauptzahl der positiven Proben aus einem grossen Bestand stammen. Insofern ist dieser relativ hohe Prozentwert nicht mit unseren Ergebnissen vergleichbar. - Unsere Befunde müssen unter Berücksichtigung der in der Literatur angegebenen sehr unterschiedlichen Titerpersistenzzeiten für die IBR- einerseits und die IPV-Infektion andererseits betrachtet werden. Nach der IBR-Infektion sollen die Titer neutralisierender Antikörper über mehrere Jahre persistieren können, während nach der Genitalinfektion offenbar mit einer wesentlich kürzeren Titerpersistenz gerechnet werden kann. Der relativ niedrige Prozentwert der von uns ermittelten Reagenten lässt unter diesem Gesichtspunkt den Schluss zu, daß zumindest die Rhinotracheitis in Hessen geringgradig verbreitet ist.

Die weitaus höchste Anzahl positiver Tiere fanden wir bei der Untersuchung auf PI-3-Antikörper (80,0 %). Über die Isolierung des Virus in hessischen Rinderbeständen wurde aus dem hiesigen Institut bereits berichtet (LUDWIG und PAULSEN, 1969). - Vergleichbare serologische Befunde liegen aus anderen Gegenden Deutschlands vor (BÖGEL und KLINGER, 1962: von 244 Tieren in Baden-Württemberg 82 % positiv; BÖGEL, 1963: von 289 Tieren in Südwestdeutschland 72,8 - 81,2 % positiv). - DAWSON und DARBYSHIRE (1964) beurteilten von 2000 Proben des gesamten United Kingdom 83,5 % als positiv. - WIZIGMANN (1962) ermittelte von 160 Tieren aus südbayerischen Beständen 53 % positive Reagenten. SANDOW und SCHMIDT (1967) konnten bei 157 Schlachtkälbern und -rindern in Leipzig nur bei 31,8 bzw. 22,4 % der Fälle PI-3-Antikörper feststellen, während MATTHES (1966) am Schlachthof West-Berlin von 163 Tieren 83 % positiv fand. - Bei einer Vielzahl anderer Haustier- und auch Wildtierspezies sind Antikörper gegen das PI-3-Virus nachgewiesen worden (WOODS et al., 1965; SANDOW und SCHMIDT, 1967; ERASMUS et al., 1967). - Humane und bovine PI-3-Stämme zeigen enge antigene Verwandtschaft, sind jedoch nicht identisch (ABINANTI et al., 1961). Über vergleichende antigenetische Untersuchungen an PI-3-Stämmen, die von anderen Tieren isoliert werden konnten, wurde unseres Wissens noch nicht publiziert. Obwohl die epizootologischen Wechselbeziehungen zwischen PI-3-Infektionen von Mensch und Tieren bzw. verschiedener Tierspezies untereinander noch nicht eindeutig geklärt wurden, macht doch das umfangreiche Wirtsspektrum dieses Erregers seine ständige Präsenz und weite Verbreitung in einem bestimmten Gebiet verständlich.

VI. Zusammenfassung der Ergebnisse

Es wurden 1034 Rinderseren, die aus den Einzugsgebieten der Veterinäruntersuchungsämter Kassel, Giessen und Frankfurt stammten, und die willkürliche Stichproben aus ca. 600 Einzelbeständen darstellen, in Kälberhoden-Sekundärkulturen auf neutralisierende Antikörper gegen das BVD/MD- und das IBR/IPV-Virus und im HAH-Test auf Antikörper gegen das PI-3-Virus untersucht. Dabei ergab sich, daß bei einem 95 %igen Signifikanzniveau bei 54,1 - 60,1 % der Rinderpopulation Hessens mit BVD/MD-, bei 0,92 - 2,48 % mit IBR/IPV- und bei 77,6 - 82,4 % mit PI-3-Antikörpertitern zu rechnen ist.

VII. Literaturverzeichnis

1. ABINANTI, F.R., BYRNE, R.J., WATSON, R.L., POELMA, L.J., LUCAS, F.R. and R.J. HUEBNER: Observations of infections of cattle with myxovirus parainfluenza-3. Am. J. Hyg. 71, 52-58 (1960)
2. ABINANTI, F.R., CHA-NOCK, R.M., COOK, M.K., WONG, D. and M. WARFIELD: Relationship of human and bovine strains of myxovirus parainfluenza 3. Proc. Soc. exp. Biol. 106, 466-469 (1961)
3. ABINANTI, F.G., HOERLEIN, A.B., WATSON, R.L., and R.J. HUEBNER: Serological studies of myxovirus parainfluenza 3 infection and prevalence of antibodies in bovines. J. Immunol. 86, 505-511 (1961)
4. ABINANTI, F.R. and R.J. HUEBNER: The serological relationship of strains of parainfluenza 3 virus isolated from humans and cattle with respiratory disease. Virology, 9, 391-394 (1959)
5. ABINANTI, F.R. and G.J. PLUMER: The isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from cattle affected with conjunctivitis - Observations on experimental infection. Amer. J. vet. Res. 22, 13-17 (1961)
6. ANDREWES, Sir Ch. and H.G. PEREIRA: Viruses of Vertebrates. Second Edition, London (1967)
7. ARMSTRONG, J.A., PEREIRA, H.J. and C. ANDREWES: Observations on the virus of infectious bovine rhinotracheitis and its affinity with the herpesvirus group. Virology 14, 276-285 (1961)
8. BAKER, J.A., McENTEE, K. and J.H. GILLESPIE: Effects of infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis (IBR-IPV) virus on newborn calves. Cornell Vet. 50, 156-170 (1960)

9. BAKER, J.A., YORK, C.J., GILLESPIE, J.H., and G.B. MITCHELL: Virus diarrhea in cattle. Amer. J. vet. Res. 15, 525-531 (1954)
10. BARENFUS, M., DELLI QUADRI, C.A., McINTYRE, R.W. and R.J. SCHROEDER: Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from calves with meningoencephalitis. J. Amer. vet. med. Ass. 143, 725-728 (1963)
11. BECKENHAUER, W.H., BROWN, A.L., LIDOLPH, A.A. and C.J. NORDEN: Immunization of swine against hog cholera with a bovine enterovirus. Vet. Med. 56, 108-112 (1961) (zit. nach Abstr. N. 1806 Vet. Bull. 31 (1961))
12. BETTS, A.O., JENNINGS, A.R., OMAR, A.R., PAGE, Z.E., SPENCE, J.B. and R.G. WALKER: Pneumonia in calves caused by parainfluenza virus type 3. Vet. Rec. 76, 382-384 (1964)
13. BINDRICH, H.: Untersuchungen über die Virusarten der Rhinotracheitis und des Exanthema coitale vesiculosum bovis mittels der Fluoreszenzmikroskopie. Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. 189, 135-146 (1963)
14. BITTLE, J.L.: Vaccination for bovine viral diarrhea mucosal disease. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 861-865 (1968)
15. BITTLE, J.L.: Comments on infectious bovine rhinotracheitis immunization. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 858-860 (1968)
16. BÖGEL, K.: Virologische Untersuchungsbefunde bei Kälbern mit respiratorischem Syndrom unter besonderer Berücksichtigung der Parainfluenza-3-Virusinfektion. II. Teil Mh. Tierheilk. 13, 162-174 (1961)
17. BÖGEL, K.: Vergleichende Untersuchungen über die Verbreitung des Diarrhoe-Virus und Parainfluenza-3-Virus bei Rindern in Süddeutschland. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 76 101-105 (1963)

18. BÖGEL, K.: Über die Verbreitung eines Virus der Mucosal-Disease Gruppe in Schafherden Süddeutschlands. Zbl. Vet. Med. 11, 687-692 (1964)
19. BÖGEL, K.: Über die Eignung des Plättchentestes für die Diagnostik bei der Mucosal Disease. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 193, 34-39 (1964)
20. BÖGEL, K. und L. KLINGER: Untersuchungen über die Epizootologie und Diagnostik bei der Parainfluenza-3-Virusinfektion des Rindes. Mh. Tierheilk. 14, 77-90 (1962)
21. BÖGEL, K., KORN, G. und R. LORENZ: Vergleichende Untersuchungen über die Bedeutung verschiedener Virusarten bei respiratorischen Erkrankungen der Rinder. Mh. Tierheilk. 14, 277-287 (1962)
22. BÖGEL, K. und J. LIEBELT: Untersuchungen über die Immunisierung von Rindern mit abgeschwächtem Parainfluenza-3-Kulturvirus. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 75, 423-425 (1962)
23. BÖGEL, K. und J. LIEBELT: Beziehung zwischen maternalen Antikörpern und Impferfolg nach der Vaccinierung des Kalbes mit Parainfluenza-3-Lebendimpfstoff. Zbl. Bakt. Abt. I. Orig. 191, 133-138 (1963 a)
24. BÖGEL, K. und J. LIEBELT: Ein Parainfluenza-3-Lebendimpfstoff für Rinder. Zbl. Bakt. Abt. I. Orig. 190, 322-333 (1963 b)
25. BÖGEL, K. und J. LIEBELT: Über die passive Immunität des Kalbes gegenüber dem Parainfluenza-3-Virus. Mh. Tierheilk. 15, 191-199 (1963 c)
26. BÖGEL, K. und H.J. NEUMANN: Untersuchungen über die Möglichkeit einer Beteiligung des Diarrhoe- bzw. Mucosal Disease-Virus als indizierendes Agens bei der Rinderleukose. Zbl. Vet. Med. 11, 11-14 (1964)

27. BÖGEL, K. und H.J. VOSS: Serologische Untersuchungen über die Verbreitung des an der Mucosal Disease beteiligten Virus in Norddeutschland. Zbl. Vet. Med. 11, 181-189 (1964)
28. BÜRKI, F., KÖNIG, H. und H.R. SCHMID: Kasuistischer Beitrag zur Mucosal Disease. Schweiz. Arch. Tierheilk. 106, 473-477 (1964)
29. CARLSON, R.C., PRITCHARD, W.R. and L.P. DOYLE: The pathology of virus diarrhea of cattle in Indiana. Amer. J. vet. Res. 18, 560-568 (1957)
30. CARMICHAEL, L.E. and F.D. BARNES: The relationship of infectious bovine rhinotracheitis virus to equine rhinopneumonitis virus. Proc. 65th Ann. Meeting US. Livestock Sanitary Assoc. 384-388 (1961)
31. CASSELBERRY, N.H.: Present status of immunization procedures for infectious bovine rhinotracheitis. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 853-856 (1968)
32. CHEATHAM, W.J. and R.A. CRANDELL: Occurrence of intranuclear inclusions in tissue cultures infected with virus of infectious bovine rhinotracheitis. Proc. Soc. exp. Biol. 96, 536-538 (1957)
33. CHOW, T.L. (1968) zit. nach BITTLE, J.L.: Comments on infectious bovine rhinotracheitis immunization. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 858-860 (1968)
34. CHOW, T.L., DEEM, A.W. and R. JENSEN: Infectious rhinotracheitis in cattle. II. Experimental Reproduction. Proc. Ann. Meeting US. Livestock Sanitary Assoc. 168-172 (1955)

35. CRANDELL, R.A.,
CHEATHAM, W.J. and
F.D. MAURER: Infectious bovine rhinotracheitis -
the occurrence of intranuclear
inclusion bodies in experimentally
infected animals.
Amer. J. vet. Res. 20, 505-509
(1959)
36. CRUICKSHANK, J.G.
and D.M. BERRY: Morphology of infectious bovine
rhinotracheitis.
Virology 25, 481-482 (1965)
37. DARBYSHIRE, J.H.: A serological relationship between
swine fever and mucosal disease
of cattle.
Vet. Rec. 72, 331 (1960)
38. DARBYSHIRE, J.H.: Agar gel diffusion studies with
a mucosal disease of cattle.
I. Preliminary results with the
technique.
Res. Vet. Sci. 3, 118-124 (1962)
39. DAWSON, P.S. and
J.H. DARBYSHIRE: The occurrence and distribution in
the United Kingdom of antibodies
to parainfluenza-3 and infectious
bovine rhinotracheitis virus in
bovine sera.
Vet. Rec. 76, 111-115 (1964)
40. DINTER, Z.: Relationship between bovine virus
diarrhoea virus and hog cholera
virus.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 188,
475-486 (1963)
41. DITCHFIELD, J. and
F.W. DOANE: The properties and classification
of bovine viral diarrhea virus.
Canad. J. comp. Med. 28, 148-152
(1964)
42. DITCHFIELD, J.,
ZBITNEW, A. and L.W.
MACPHERSON: Association of myxovirus parain-
fluenza 3 (RE55) with upper respi-
ratory infection of horses.
Canad. vet. J. 4, 175-180 (1963)
43. DRZENIEK, R., BÖGEL,
K. und R. ROTT: On the classification of bovine
parainfluenza 3 viruses.
Virology 31, 725-727 (1967)

44. DULBECCO, R. and M. VOGT: Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. J. exp. Med. 99, 167 (1957)
45. ERASMUS, B.J., BOSHOFF, S.T. and L.M. PIETERSE: Antibodies to parainfluenza-3 virus in sera of domestic and game animals in South Africa. Bull. Off. Epiz. 68, 657-664 (1967)
46. FASTIER, L.B. and B.F. SMITH: Infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vaginitis: virus isolation and vaccination studies. N.Z. vet. J. 10, 11-17 (1962)
zit. nach Abstr. No. 3935 Vet. Bull. 36 (1966)
47. FENNER: Bläschenausschlag des Rindviehs. Berl. Tierärztl. Wschr. 6, 121-123 (1890)
48. FERNELIUS, A.L.: Noncytopathogenic bovine viral diarrhea viruses detected and titrated by immunofluorescence. Canad. J. comp. Med. 28, 121-126 (1964)
49. FRENCH, E.L.: A spezific virus encephalitis in calves; isolation and characterization of the causal agent. Austr. vet. J. 38, 216-221 (1962 a)
50. FRENCH, E.L.: Relationship between infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus and a virus isolated from calves with encephalitis. Austr. vet. J. 38, 555-556 (1962 b)
51. GILLESPIE, J. (1955) Shipping fever of cattle. zit. nach SINHA, S.K. and F.R. ABINANTI: Advanc. vet. Sci. 7, 225-271 (1962)
52. GILLESPIE, J.H., BAKER, J.A. and K. McENTEE: A cytopathogenic strain of virus diarrhea virus. Cornell Vet. 50, 73-79 (1960)

53. GILLESPIE, J.H.,
BAKER, J.A. and
W.C. WAGNER: The relationship of infectious
pustular vulvovaginitis virus to
infectious bovine rhinotracheitis
virus.
Proc. 62th Ann. Meeting US. Live-
stock Sanitary Assoc. 119-126
(1958)
54. GILLESPIE, J.H.,
COGGINS, L., THOMPSON,
J. and J.A. BAKER: Comparison by neutralization tests
of strains of virus isolated from
virus diarrhea and mucosal disease.
Cornell Vet. 51, 155-159 (1961)
55. GILLESPIE, J.H.,
McENTEE, K., KENDRICK,
J.W., and W.C. WAGNER: Comparison of infectious pustular
vulvovaginitis with infectious bo-
vine rhinotracheitis virus.
Cornell Vet. 49, 288-297 (1959)
56. GILLESPIE, J.H.,
MADIN, S.H. and N.
DARBY: Cellular resistance in tissue cul-
ture induced by non-cytopathogenic
strains to a cytopathogenic strain
of virus diarrhea virus of cattle.
Proc. Soc. exp. Biol. 110, 248-250
(1962)
57. GRIFFIN, T.P.,
HOWELLS, W.V.,
CRANDELL, R.A. and
F.D. MAURER: Stability of the virus of infec-
tious bovine rhinotracheitis.
Amer. J. vet. Res. 19, 990-992
(1958)
58. GRÜNDER, H.D., REU-
LEAUX, I.R. und B.
LIESS: Feststellung der virusbedingten
Rhinotracheitis infectiosa des Rin-
des. I. Herkunft und Isolierung des
Virus.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 67, 514-
519 (1960)
59. GUTENKUNST, D.E. and
W.A. MALMQUIST: Separation of a soluble antigen and
infectious particles of bovine viral
diarrhea viruses and their relation-
ship to hog cholera.
Canad. J. comp. Med. 27, 121-123
(1963)
60. GUTENKUNST, D.E. and
W.A. MALMQUIST: Complement fixing and neutralizing
antibody response to bovine viral
diarrhea and hog cholera antigens.
Canad. J. Comp. Med. 28, 19-23
(1964)

61. GUTENKUNST, D.E. and W.A. MALMQUIST: Soluble antigen of bovine viral diarrhea virus. I. Intracellular synthesis, separation and characterization. Arch. ges. Virusforsch. 15, 159-168 (1965)
62. HAHNEFELD, H. und E. HAHNEFELD: Plaquebildung bei dem Virus des Bläschenausschlages des Rindes (Exanthema coitale vesiculosum bovis) auf Kälbernieren-Einschicht-Kulturen. Arch. exp. Vet. Med. 16, 1115-1123 (1962)
63. HAMDY, A.H.: Variants of myxovirus parainfluenza-3 isolated from calves clinically affected with shipping fever. Cornell Vet. 55, 623-630 (1965)
64. HASELOFF, O.W. und H.J. HOFFMANN: Kleines Lehrbuch der Statistik. Walter de Gruyter u. Co. Berlin (1968)
65. HEDDLESTON, K.L., REISINGER, R.C. and L. P. WATKO: Studies on the transmission and etiology of bovine shipping fever. Amer. J. vet. Res. 23, 548-553 (1962)
66. HERMODSON, S. and Z. DINTER: Properties of bovine virus diarrhoea virus. Nature 194, 893-894 (1962)
67. HORE, D.E.: Isolation of ovine strains of parainfluenza virus serologically related to type 3. Vet. Rec. 79, 466-467 (1966)
68. HUGHES, J.P., OLANDER, H.J. and M. WADA: Keratokonjunktivitis associated with infectious bovine rhinotracheitis. J. Amer. vet. Med. Ass. 145, 32-39 (1964)
69. INABA, Y., OMORI, T. and T. KUMAGAI: Detection and measurement of non-cytopathogenic strains of virus diarrhea of cattle by the END method. Arch. ges. Virusforsch. 13, 425-429 (1963)

70. McINTYRE, R.W.: Experimental studies of acute upper respiratory infection in cattle.
J. Amer. vet. med. Ass. 125, 473 (1954)
71. KAHRS, R.F.: Studies on combination vaccines for dairy cattle.
Ph. D. Thesis, Cornell University 1965, zit. nach BITTLE, J.L.: Vaccination for bovine viral diarrhoea-mucosal disease.
J. Amer. vet. med. Ass. 152, 861-865 (1968)
72. KAWAKAMI, Y., KAJI, T., KAME, T., OMURO, M., HIRAMUNE, T., MURASE, N. and M. MATUMOTO: Infection of cattle with parainfluenza 3 virus with special reference to udder infection.
I. Virus isolation from milk.
Jap. J. Microbiol. 10, 159-169 (1966)
73. KENDRICK, J.W., GILLESPIE, J.H. and K. McENTEE: Infectious pustular vulvovaginitis of cattle.
Cornell Vet. 48, 458 - 495 (1958)
74. KENDRICK, J.W. and O.C. STRAUB: Infectious bovine rhinotracheitis - infectious pustular vulvovaginitis virus infection in pregnant cows.
Amer. J. vet. Res. 28, 1269-1282 (1967)
75. McKERCHER, D.G.: Infectious bovine rhinotracheitis.
Advanc. Vet. Sci. 5, 299-328 (1959)
76. McKERCHER, D.G., MOULTON, J.E., KENDRICK, J.W. and J. SAITO: Recent developments on upper respiratory disease of cattle.
Proc. Ann. Meeting US. Livestock Sanitary Assoc. 151-167 (1955)
77. McKERCHER, D.G., SAITO, J.K., WADA, E.M. and O. STRAUB: Current status of the newer virus diseases of cattle.
Proc. 62th Ann. Meeting US. Livestock Sanitary Assoc. 136-156 (1958)
78. McKERCHER, D.G., STRAUB, O.C., SAITO, J.K. and E.M. WADA: Comparative studies of the etiological agents of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis.
Canad. J. comp. Med. 23, 320-328 (1959), zit. nach Abstr. No. 1818 Vet. Bull. 30 (1960)

79. McKERCHER, D.G. and E.M. WADA: The virus of infectious bovine rhinotracheitis as a cause of abortion in cattle. J. Am. vet. med. Ass. 144, 136-142 (1964)
80. KNIAZEFF, A.J. and M. McCLAIN: A quantitative test for noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus (1963), zit. nach PRITCHARD, W.R.: Bovine viral diarrhea-mucosal disease complex. Advanc. vet. Sci. 8, 1-47 (1963)
81. KNIAZEFF, A.J., HUCK, R.A., JARRETT, W.F.H., PRITCHARD, W.R., RAMSEY, F.K., SCHIPPER, J.A., STÖBER, M. and B. LIESS: Antigenic relationship of some bovine viral diarrhea-mucosal disease viruses from the United States, Great Britain, and West Germany. Vet. Rec. 73, 768-769 (1961)
82. KNIAZEFF, A.J. and W.R. PRITCHARD: Antigenic relationship in the bovine viral diarrhea-mucosal disease complex. Proc. 64th Ann. Meeting US. Livestock Sanitary Assoc., 344-350 (1960)
83. KRETZSCHMAR, Chr., BÖHME, H. und P. TYRPE: Untersuchungen über Vorkommen, Verbreitung und Epizootologie der infektiösen pustulären Vulvovaginitis (Bläschenausschlag) des Rindes im Bezirk Magdeburg. Fortpfl. Haust. 2, 337-357 (1966) zit. nach Referat aus Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 80, 442 (1967)
84. KUMAGAI, T., MORIMOTO, T., SHIMIZU, T., SASAHAWA, J. and M. WATANABE: Antigenic relationship between hog cholera virus and bovine viral diarrhea virus as revealed by cross-neutralisation. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. 2, 201 (1962)
85. LEE, K.M. and J.H. GILLESPIE: Propagation of virus diarrhea virus of cattle in tissue culture. Am. J. Vet. Res. 18, 952-953 (1957)

86. LIESS, B.: Die ätiologische Abgrenzung selbständiger Virusinfektionen, insbesondere der Virusdiarrhoe-Mucosal Disease im sogenannten "Mucosal-Disease-Komplex" bei Rindern.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 74, 46-49 (1967)
87. LIESS, B. und M. STÖBER: zit. nach KNIAZEFF et al. (siehe Lit-Nr. 81)
88. LUDWIG, H. und J. PAULSEN: Isolierung und fluoreszenzserologische Untersuchung von Parainfluenza-3-Virus aus Vaginal- und Nasentupfern vom Rind.
Zbl. Vet. Med. (1969) - im Druck
89. LUDWIG, H., PAULSEN, J. und J.S. KAMINJOLO: unveröffentlicht
90. LUKAS, G.N., WEIDENBACK, S.J., PALMER, K.G., DICKIE, C.W., DUNCAN, R.F. and J. BARRERA: A bovine fetal viral isolate neutralized by IBR immune serum as a cause of abortion in cattle.
Proc. 67th Ann. Meeting US. Livestock Sanitary Assoc. 108-128 (1963)
91. MADIN, S.H., YORK, C.J., and D.G. McKERCHER: Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus.
Science 124, 721-722 (1956)
92. MALMQUIST, W.A.: Bovine viral diarrhea-mucosal disease: Etiology, Pathogenesis, and applied immunity.
J. Amer. vet. med. Ass. 152, 763-768 (1968)
93. MARE, C.J. and S.J. van RENSBURG: The isolation of viruses associated with infertility in cattle. A preliminary report.
J. S. Afr. vet. Med. Ass. 32, 201-210 (1961)
94. MARSHALL, R.G.: Isolation of bovine parainfluenza 3 virus in chick embryos.
J. Bact. 88, 267-268 (1964)

95. MATTHES, S.: Untersuchungen auf Parainfluenza-3 an Schlachtrindern und Rindern West-berliner Abmelkbetriebe. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 79, 147-150 (1966)
96. MILLER, N.J.: Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle. J. Amer. vet. med. Ass. 126, 463-467 (1955)
97. NOICE, F. and I.A. SCHIPPER: Isolation of mucosal disease virus by tissue cultures in mixture 199, Morgan, Morton and Parker. Proc. Soc. exp. Biol. 100, 84-86 (1959)
98. OLAFSON, P., McCALLUM, A.D. and F.H. FOX: A apparently new transmissible disease in cattle. Cornell Vet. 36, 205-213 (1946)
99. OLAFSON, P. and C.G. RICKARD: Further observations on the virus diarrhea (new transmissible disease) of cattle. Cornell Vet. 37, 104-106 (1947)
100. PLIMPTON, R.F.: Studies on combination vaccines for dairy cattle. Diss. Abstr. Cornell University 1966, zit. nach Abstracts No. 189 Vet. Bull. 37, 1967)
101. PRITCHARD, W.R.: The bovine viral diarrhea - mucosal disease complex. Advanc. vet. Sci. 8, 1-47 (1963)
102. PRITCHARD, W.R. and R.G. CARLSON: Virus diarrhea in cattle. J. Am. vet. med. Ass. 130, 383-385 (1957)
103. RAMSEY, F.K. and W.H. CHIVERS: Mucosal disease of cattle. N. Amer. Vet. 34, 629-633 (1953)
104. REED, L.J. and H. MUENCH: A simple method of estimating fifty percent endpoints. Amer. J. Hyg. 27, 493-497 (1938)

105. REISINGER, R.C.,
HEDDLESTON, K.L.
and C.A. MANTHEI: A myxovirus (SF-4) associated with shipping fever of cattle. J. Amer. vet. med. Ass. 135, 147-152 (1959)
106. REISINGER, L. and
H. REIMANN: Beitrag zur Ätiologie des Bläschen-ausschlages des Rindes. Proc. 13th Internatl. Vet. Congr. Zürich 1928, zit. nach KENDRICK, J.W., GILLESPIE, J.H. and K. McENTEE: Infectious pustular vulvovaginitis of cattle. Cornell Vet. 48, 458-495 (1958)
107. ROBINSON, V.B.,
NEWBERNE, J.W. and
F.E. MITCHELL: Vaccination of pregnant cattle with infectious bovine rhinotracheitis vaccine. Vet. Med. 56, 437-440 (1961) zit. nach Abstr. No. 772 Vet. Bull. 32 (1962)
108. RÖHRER, H.: Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren, Band 2. VEB Gustav Fischer Verlag Jena (1967)
109. RUSSEL, W.C. and L.V.
CRAWFORD: Properties of the nucleic acids from some herpes group viruses. Virology 22, 288-292 (1964)
110. SANDOW, D. und J.
SCHMIDT: Vorkommen hämagglutinationshemmender Antikörper gegen Parainfluenzaviren bei verschiedenen Tierspezies. Z. med. Mikrobiol. u. Immunol. 153, 233-249 (1967)
111. SATTAR, S.A., BOHL,
E.H. and M. SENTURK: Viral causes of abortion in Ohio. J. Amer. vet. med. Ass. 147, 1207-1210 (1965)
112. SATTAR, S.A., BOHL,
E.H., TRAPP, A.L. and
A.H. HAMDY: In utero infection of bovine fetuses with myxovirus parainfluenza-3. Amer. J. vet. Res. 28, 45-49 (1967)
113. SCHAAF, J.: Über eine endemieartig auftretende Stomatitis erosiva bei Rindern. Arch. exp. Vet. Med. 2, 194-201 (1955)

114. SCHIPPER, I.A. and F.M. NOICE: Intra-herd transmission of mucosal disease.
Vet. Med. 54, 442-445 (1959)
115. SCHOOP, G. und G. WACHENDÖRFER: Die Mucosal Disease des Rindes.
Vet.-Med. Nachr., 126-141 (1963)
116. SCHROEDER, R.J. and M.D. MOYS: An acute upper respiratory infection of dairy cattle.
J. Amer. vet. med. Ass. 125, 471-472 (1954)
117. SCHULZ, L.C.: Pathologisch anatomische Befunde bei der sogenannten "Mucosal Disease" (Schleimhautkrankheit) des Rindes.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 66, 586-588 (1959)
118. SCHWARZ, A.J.F., YORK, C.J., ZIRBEL, L.W. and L.A. ESTELLA: Modification of infectious bovine rhinotracheitis virus in tissue culture and development of a vaccine.
Proc. Soc. exp. Biol. 96, 453-458 (1958)
119. SEIBOLD, H.R. und DOUGHERTY, E.: Virus diarrhea virus - neutralizing substance in ovine and porcine serums.
Am. J. vet. Res. 28, 137-140 (1967)
120. SHEFFY, B.E., COGGINS, L. and J.A. BAKER: Relationship between hog cholera virus and virus diarrhea virus of cattle.
Proc. Soc. exp. Biol. 109, 349-352 (1962)
121. SINHA, S.K. and F.R. ABINANTI: Shipping fever of cattle.
Advanc. vet. Sci. 7, 225-271 (1962)
122. STEVENS, J.G. and N.B. GROMAN: Properties of infectious bovine rhinotracheitis virus in a quantitated virus-cell culture system.
Amer. J. vet. Res. 24, 1158-1163 (1963)
123. STÖBER, M.: Die klinische Seite der sogenannten "Mucosal Disease" (Schleimhautkrankheit des Rindes).
Dtsch. tierärztl. Wschr. 66, 582-586 (1959)

124. STRAUB, O.C.: Zur Seuchensituation bei der infektiösen Rhinotracheitis und dem Bläschenausschlag der Rinder in Mitteleuropa. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 75, 272-273 (1962)
125. STRAUB, O.C.: Experimentelle Aborte durch das Bläschenausschlagvirus des Rindes. Dtsch. tierärztl. Wschr. 73, 286-288 (1966)
126. STRAUB, O.C.: Die Rhinotracheitis und der Bläschenausschlag des Rindes. Vet.-med. Nachr. 2/3, 253-263 (1967)
127. STRAUB, O.C. und H.O. BÖHM: Zwei Ausbrüche von Bläschenausschlag bei Rindern in Süddeutschland. Dtsch. tierärztl. Wschr. 69, 616-617 (1962)
128. STRAUB, O.C. und H.O. BÖHM: Kongreßberichte 17. Welttierärztekongreß, Hannover, 1, 455 (1965)
129. STRAUB, O.C. und H.O. BÖHM: Experimentelle Infektionen des Zentralnervensystems durch das Virus der bovinen Rhinotracheitis. Dtsch. tierärztl. Wschr. 72, 124-128 (1965)
130. STRAUB, O.C. und G. KIELWEIN: Experimentelle Mastitiden durch das Bläschenausschlagvirus des Rindes. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 72, 310-312 (1966)
131. STRAUB, O.C., MATHEKA, H.D. und K. STROHMAIER: Die Differenzierung des Virus der Rhinotracheitis (IBR) vom Virus des Bläschenausschlages (IPV) durch die trägerfreie Virus-Zonenelektrophorese in einem Glukose-Dichtegradienten. Zbl. Vet. Med. 11, 565-571 (1964)
132. STRAUB, O.C., M. del C. PLAB und B. KLEINE: Infektiöse Rhinotracheitis in einem Milchviehbestand. Tierärztl. Umsch. 20, 23-25 (1965)

133. STUDDERT, M.J., BAR-
KER, C.A.V. and M.
SAVAN: Infectious pustular vulvovaginitis
virus infection in bulls.
Amer. J. vet. Res. 25, 303-314
(1964)
134. UNDERDAHL, N.R.,
GRACE, O.D. and A.B.
HOERLEIN: Cultivation in tissue culture of
cytopathogenic agent from bovine
mucosal disease.
Proc. Soc. exp. Biol. 94, 795-797
(1957)
135. VOSS, H.J.: Beobachtungen über die "Schleimhaut
erkrankung" (Mucosal Disease) der
Rinder in Deutschland.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 66, 149-151
(1959)
136. WACHENDÖRFER, G.: Zur Diagnose der Mucosal Disease
des Rindes mit Hilfe des Agargel-
Testes.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 72,
413-417 (1965)
137. WAGNER, W.C. and J.H.
GILLESPIE: Comparative studies of a Canadian
strain with New York strains of
infectious pustular vulvovaginitis
virus and with infectious bovine
rhinotracheitis virus.
Cornell Vet. 49, 409-410 (1959)
138. WATERSON, A.P., JEN-
SEN, K.E., TYRELL,
D.A.J., and R.W.
HORNE: The structure of parainfluenza 3
virus.
Virology 14, 374-378 (1961)
139. WHITEMAN, J.E. and
F.M. HETRICK: In direct hemagglutination test for
detecting antibody to IBR-virus.
Cornell Vet. 55, 613 (1965)
140. WIZIGMANN, G.: Vorkommen und Verbreitung der In-
fektösen Rhinotracheitis und der
Parainfluenza 3 des Rindes in Süd-
bayern.
Inaug. Diss. München 1962
141. WOODS, G.T.: The natural history of bovine myxo-
virus parainfluenza-3.
Amer. J. vet. med. Ass. 152, 771-
777 (1968)

142. WOODS, K., SEGRE, D., and THURMON: Isolation and transmission studies with bovine parainfluenza-3 virus. Amer. J. vet. Res. 25, 1021-1026 (1964)
143. WOODS, G.T., SIBINO-VIC, K. and G. MARQUIS: Experimental exposure of calves, lambs and colostrum-deprived pigs to bovine myxovirus parainfluenza-3. Amer. J. vet. Res. 26, 52-56 (1965)
144. YORK, C.J.: Infectious bovine rhinotracheitis. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 758-760 (1968)
145. YORK, C.J., ROSNER, S.F. and C.J. McLEAN: Evaluation of vaccines for virus diarrhea of cattle. Proc. 64th Ann. Meeting US. Livestock Sanitary Assoc. 339-343 (1960)
146. ZUSCHEK, F. und T.L. CHOW: Immunogenicity of 2 infectious bovine rhinotracheitis vaccines. J. Amer. vet. med. Ass. 139, 236-237 (1961)

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. F. Ulbrich[†] für die Überlassung des Themas, für seine Gastfreundschaft und für die mir jederzeit gewährte menschliche und fachliche Unterstützung herzlich bedanken. Auch danke ich ihm für die Erlaubnis, meine Arbeit in seinem Institut durchzuführen.

Besonders danken möchte ich Herrn Dr. Jan Paulsen für seine Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

Außerdem danke ich Herrn Dr. H. Ludwig für seine Hilfe am Anfang meiner Arbeit und Fräulein I. Schultze für die Anfertigung der photographischen Aufnahmen.

Mein herzlicher Dank gilt auch allen anderen Mitarbeitern des Institutes für die angenehme Zusammenarbeit.

L e b e n s l a u f

Am 7. 5. 1934 wurde ich, James Stewart Kaminjolo, als Sohn des Beamten James Stewart Kaminjolo und seiner Ehefrau Winnie, geb. Sikumbili, in Zomba/Malawi geboren.

Von 1940 bis 1946 besuchte ich die Junior Primary School in Zomba, anschließend von 1946 bis 1950 die Senior Primary School in Blantyre. Nach vierjährigem Besuch der Blantyre Secondary School legte ich 1954 das Cambridge Oversea School Examen ab (Äquivalent zum deutschen Abitur). Nach weiteren zwei Jahren bestand ich das Cambridge Oversea Higher School Examen in Goromonzi-Salisbury/Rhodesien.

Von Dezember 1956 bis August 1958 arbeitete ich am Veterinary Department im "Livestock Improvement Centre" und später im Forschungslaboratorium.

Im Oktober 1958 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Veterinär-Medizinischen Hochschule der Universität Bristol.

Von Oktober 1963 bis Juni 1964 war ich im Veterinary Department von Malawi tätig und ging von dort an die Veterinär-Medizinische Hochschule Nairobi/Kenya, um mein Studium der Veterinärmedizin zu beenden. Im März 1966 legte ich das Staatsexamen als Tierarzt ab (Bachelor of Veterinary Science - B. V. Sc.).

Von April bis August 1966 war ich als District Veterinary Officer für die Regierung Malawis tätig, und von September 1966 bis März 1967 arbeitete ich für die Veterinär-Medizinische Fakultät Nairobi/Kenya als Forschungsassistent in der Abteilung für Virologie.

Im April 1967 kam ich nach Deutschland und nahm an einem viermonatigen Sprachkursus am Goethe-Institut in Schwäbisch-Hall teil.

Am 1. August 1967 kam ich nach Giessen und absolvierte zunächst einen weiteren Deutschkursus an der Universität, den ich mit einer Abschlußprüfung erfolgreich beendete. Im Sommersemester 1968 und im Wintersemester 1968/69 studierte ich an der hiesigen Fakultät Veterinärmedizin. Gleichzeitig begann ich mit dem Studium zu meiner Doktorarbeit im Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere.

